|  |  |
| --- | --- |
| ICS | 点击此处添加ICS号 |
| CCS | |  | | --- | | D:\000000部门项目\09标准化插件开发\程序源代码\StandardEditor_ShanDongKeXieYuan\团标首页面字母T.pngD:\000000部门项目\09标准化插件开发\程序源代码\StandardEditor_ShanDongKeXieYuan\团标首页面字母T后面的反斜杠.pngGXICMMA |   点击此处添加CCS号 |

     团体标准

T/GXICMMA—2024

**灵芝及相关产品多糖的提取与测定技术规程**

Technical regulations for extraction and determination of polysaccharides from ganoderma and related products

征求意见稿

XXXX - XX - XX发布

XXXX - XX - XX实施

广西中药材产业协会  发布

1. 前言

本文件按照GB/T 1.1-2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由广西中医药大学提出。

本文件由广西中药材产业协会归口。

本文件起草单位：广西中医药大学、桂林三金大健康产业有限公司、广西植物研究所、广西寿菌园新技术开发有限公司。

本文件主要起草人：姚春、李典鹏、高程海、袁清霞、冯钰瑶、陈显强、卢凤来、王登斌、陈建有。

灵芝及相关产品多糖的提取与测定技术规程

* 1. 范围

本文件界定了灵芝及相关产品多糖提取与测定的术语和定义、规定了使用的仪器和试剂、提取与测定步骤。

本文件适用于灵芝子实体及其制品切片、孢子粉（破壁孢子粉）中灵芝多糖的提取及测定。

* 1. 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB 5749 生活饮用水卫生标准

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

GB/T 31640 食品安全国家标准 食用酒精

GB/T 603 化学试剂 试验方法中所用制剂及制品的制备

NY/T 11676 食用菌中粗多糖含量的测定

GB/T 32198 红外光谱定量分析技术通则

* 1. 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1 多糖

多糖是一类由10个以上单糖通过糖苷键连接而成的高分子化合物，能被水解为单糖。

* 1. 仪器和试剂

4.1 仪器

分析天平：感量0.01 g和0.0001 g，粉碎机，0.425 mm标准网筛，恒温水浴锅，旋转蒸发仪，离心机，真空冷冻干燥机，紫外分光光度计，红外光谱仪，高效液相色谱仪。

4.2 试剂

单糖标准品（葡萄糖、半乳糖、甘露糖、核糖、木糖、葡萄糖醛酸、半乳糖醛酸、鼠李糖、阿拉伯糖、岩藻糖）：纯度≥97%，甲醇：色谱纯，乙腈：色谱纯，三氟乙酸，1-苯基-3-甲基-5-吡唑啉酮（PMP），氯仿，二水合磷酸二氢钠，十二水合磷酸氢二钠，氯化钠，氢氧化钠，苯酚：重蒸馏，硫酸：ρ=1.84 g/mL，盐酸，95%食用酒精，溴化钾。

* 1. 提取与测定步骤

5.1 多糖提取

5.1.1 原料预处理

取灵芝子实体或灵芝切片，粉碎机粉碎（灵芝孢子粉无需粉碎），过0.425 mm标准网筛，将样品装于密封容器中，标明标记，备用。

5.1.2 多糖提取

取一定量灵芝粉末，按照料液比1:40（mg/mL），100 ℃水浴提取3 h，离心或过滤，取滤液；滤渣加40倍水，100 ℃水浴再次提取3 h，离心或过滤，取滤液。合并两次提取滤液，减压浓缩至总滤液体积的1/3，得浓缩液，搅拌加入95%食用酒精至酒精浓度75%，4 ℃~10 ℃醇沉12 h以上。离心收集沉淀物，真空冷冻干燥后得到灵芝多糖。

5.2 多糖含量测定

检测提取所得多糖含量。精密称取干燥的灵芝多糖适量溶解，按NY/T 1676中规定的方法进行测定。

5.3 红外光谱扫描

检测多糖特征结构基团。取干燥的灵芝多糖1 mg~2 mg与100 mg左右干燥溴化钾粉末混合，置于石英研钵中研磨成细小粉末，压片，红外光谱仪对样品进行扫描，按GB/T 32198中规定的方法进行测定。

5.4 分子量测定

5.4.1 色谱条件

色谱柱：Shodex OHpak SB-804 HQ；

流动相：0.1 mol/L 氯化钠溶液；

柱温：35 ℃；

流速：0.5 mL/min；

进样量：20 μL；

检测器：示差折光检测器。

5.4.2 测定

精密称取适量灵芝多糖，0.1 mol/L 氯化钠溶液溶解得到2 mg/mL的待测样，按5.4.1所述条件进样，使用GPC分析软件计算样品分子量。

5.5 单糖组成测定

5.5.1 色谱条件

色谱柱：C18柱，长250 mm，内径4.6 mm，粒度5 μm；

流动相：pH 6.7磷酸盐缓冲液：乙腈=83：17（体积比v/v），等度洗脱；

柱温：30 ℃；

检测波长：245 nm；

流速：1 mL/min；

进样体积：20 μL；

检测器：二极管阵列检测器。

5.5.2 单糖衍生

精密称取干燥的灵芝多糖1 mg于水解管中，加入4 mol/L三氟乙酸溶液200 μL，120 ℃水解2 h，冷却至室温后，加入甲醇在旋转蒸发仪上多次旋蒸去除三氟乙酸。加入100 μL水溶解，待衍生化。往水解液中加入0.6 mol/L氢氧化钠溶液100 μL，混匀，加入200 μL的PMP甲醇溶液，混匀，70 ℃反应100 min。冷却至室温，加入100 μL 0.3 mol/L盐酸溶液，混匀，转移至离心管中，加入水1.5 mL，氯仿2 mL，涡旋混匀后静置，取上层溶液再加入氯仿按相同操作处理两次，上层溶液过0.45 μm滤膜过滤，取滤液待测。

5.5.3单糖组成测定

取5.5.2待测液按5.5.1所述条件进样，根据保留时间确定灵芝多糖中的单糖组成。