

团体标准

T/GDFDTAEC 05—2021

保健食品中总三萜的测定-分光光度法

Determination of total triterpenoids in health food by Spectrophotometry

(送审稿)

2021 - XX - XX 发布

2021 - XX - XX 实施

广东省食品药品审评认证技术协会 发布

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。

本标准由广东省科学院测试分析研究所（中国广州分析测试中心）、广州汇标检测技术中心提出。

本标准由广东省食品药品审评认证技术协会归口。

本标准起草单位：广东省科学院测试分析研究所（中国广州分析测试中心）、广州汇标检测技术中心、汤臣倍健股份有限公司、广东粤微食用菌技术有限公司、华测检测认证集团股份有限公司、广州金至检测技术有限公司、纽斯葆广赛（广东）生物科技股份有限公司、无限极（中国）有限公司、广东林中宝生物科技股份有限公司

本标准主要起草人：XXX、XXX、XXX

本标准首次发布。

保健食品中总三萜的测定-分光光度法

1 范围

本标准规定了保健食品中总三萜的测定方法。

本标准适用于灵芝子实体、灵芝孢子粉（破壁）、灵芝孢子油中灵芝总三萜含量的测定。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅注日期的版本适用于本文件。凡是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/T 6682-2008 分析实验室用水规格和试验方法

GB/T 12728-2006 食用菌术语

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 方法原理

灵芝及其制品中三萜类物质在高氯酸作用下和香草醛反应生成有色物质，以齐墩果酸为对照品，在一定的浓度范围内，其吸光度与化合物含量符合朗伯比尔定律，可测定试样中总三萜的含量。

5 试剂

5.1 高氯酸：分析纯

5.2 冰乙酸：分析纯

5.3 无水乙醇：分析纯

5.4 乙酸乙酯：分析纯

5.5 5%香草醛-冰乙酸溶液：准确称取香草醛 0.5g 于 10mL 容量瓶中，加冰乙酸溶解并定容至刻度线。此溶液需现配现用。

5.6 对照品：齐墩果酸（CAS number:508-02-1）。

5.7 对照品储备溶液：取齐墩果酸对照品约 10.0mg，精密称定，置 100mL 容量瓶中，用无水乙醇溶解并稀释至刻度，摇匀，制成约 0.1mg/mL 的齐墩果酸对照品储备液。

6 仪器设备

6.1 可见分光光度计

6.2 水浴锅

6.3 干燥箱

6.4 高速粉碎机

6.5 分析天平（精密度 0.0001g、0.00001g）

6.6 超声提取器（超声功率 \geq 200w）

7 分析步骤

7.1 试样提取

7.1.1 灵芝子实体

取试样于高速粉碎机中粉碎过筛（孔径约为 2.8mm/7 目筛），将过筛后试样于 $103\pm 2^{\circ}\text{C}$ 烘箱烘干至恒重。准确称取制备试样 1.0g（或含待测组分约 15mg-25mg），置于 150mL 具塞锥形瓶中，精密加入 50mL 无水乙醇，称重（精确至 0.01g），至超声提取器中常温超声提取 30min，取出冷却至室温，加无水乙醇补充损失的重量，摇匀。过滤后备用。

7.1.2 灵芝孢子粉

取均匀试样（胶囊制剂取 20-30 粒内容物混合均匀）0.1-1.0g（或含待测组分约 15mg-25mg），置于 50mL 容量瓶中，加入约 30mL 无水乙醇至超声提取器中常温超声提取 30min，取出冷却至室温，加无水乙醇至刻度，摇匀。过滤后备用。

7.1.3 灵芝孢子油

取均匀试样（胶囊制剂取 10-20 粒内容物混合均匀）0.1-0.5g（或含待测组分约 30mg-50mg），置于 100mL 容量瓶中，加入乙酸乙酯 70mL 至超声提取器中常温超声 20min，取出冷却至室温，加乙酸乙酯至刻度，摇匀，备用。

7.2 测定

7.2.1 仪器条件

7.2.1.1 测定波长：546 nm。

7.2.1.2 比色皿：1 cm。

7.2.2 标准曲线制备

吸取齐墩果酸储备液（5.7）0.00mL、0.20mL、0.40mL、0.60mL、0.80mL、1.00mL、1.20mL（齐墩果酸含量分别为 $0\ \mu\text{g}$ 、 $20\ \mu\text{g}$ 、 $40\ \mu\text{g}$ 、 $60\ \mu\text{g}$ 、 $80\ \mu\text{g}$ 、 $100\ \mu\text{g}$ 、 $120\ \mu\text{g}$ ）于具塞比色管中，水浴蒸干溶剂。加入新配制的 5%香草醛-冰乙酸溶液 0.20mL 和高氯酸 0.80mL，轻轻振荡。于 $70\pm 1^{\circ}\text{C}$ 水浴加热 15min，取出，立即置冰水冷却 5min，后稳定至室温。用移液管准确移取冰乙酸 5.00mL 稀释，摇匀。以试剂空白作参比，在 30min 内用紫外可见分光光度计在 546nm 处测其吸光度值 A。以吸光度 A 为纵坐标，以齐墩果酸的质量 (mg) 为横坐标，绘制标准曲线，求出直线回归方程并计算相关系数。

7.2.3 试样溶液的测定

取 0.20mL 供试液于具塞比色管,水浴蒸干溶剂。分别加入 0.20mL 5%香草醛-冰乙酸溶液和 0.80mL 高氯酸,轻轻振荡,于 $70\pm 1^{\circ}\text{C}$ 水浴加热 15min,取出,立即置冰水冷却 5min,后稳定至室温。用移液管准确移取冰乙酸 5.00mL 稀释,摇匀。以试剂空白作参比,在 30min 内用紫外分光光度计在 546nm 处测其吸光度 A。通过线性回归方程计算得到供试液中总三萜的质量。

8 分析结果表述

试样中总三萜的含量用质量分数 X 表示,单位为克每百克 (g/100g),按式 (1) 计算:

$$X = \frac{m_2 \times V_1}{m_1 \times V_2 \times 1000000} \times 100 \quad \dots\dots (1)$$

式中:

m_1 ——试样的质量,单位为克 (g);

V_1 ——样品溶液定容的体积,单位为毫升 (mL);

m_2 ——由标准曲线计算得出的待测液中总三萜的质量,单位为微克 (μg);

V_2 ——测定用的样液体积,单位为毫升 (mL)。

所得结果保留三位有效数字。

9 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 10%。