

NY

中华人民共和国农业行业标准

NY/T 1676—2023

代替 NY/T 1676—2008

食用菌中粗多糖的测定 分光光度法

Determination of crude polysaccharides in edible mushroom—
Spectrophotometric method

2023-04-11 发布

中华人民共和国农业农村部 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。

本文件代替 NY/T 1676—2008《食用菌中粗多糖含量的测定》，与 NY/T 1676—2008 相比，除结构调整和编辑性改动外，主要变化如下：

- a) 更改了“范围”中适用范围的表述，将“食用菌制品”明确为“片菇、碎菇、干菇、菇粉等初加工制品”（见第1章，2008年版第1章）；
- b) 增加了规范性引用文件“GB/T 12728 食用菌术语”（见第2章，2008年版第2章）；
- c) 多糖提取方法由沸水提取法改为微波提取法（见7.3）；
- d) 样品前处理步骤由先去除单（二）糖再提取多糖改为先提取多糖再去除单（二）糖（见7.4）。

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。

本文件由农业农村部农产品质量安全监管司提出。

本文件由农业农村部农产品营养标准专家委员会归口。

本文件起草单位：上海市农业科学院、农业农村部食用菌产品质量监督检验测试中心（上海）、江苏安惠生物科技有限公司、上海沛元农业发展有限公司、上海科立特农产品检测技术服务有限公司。

本文件主要起草人：赵晓燕、雷萍、周昌艳、张艳梅、陈惠、庞小博、刘海燕、门殿英、吴伟杰、陈磊、赵志勇、鄂恒超、李晓贝、范婷婷、董慧、白冰、何香伟、李健英、黄柳娟、黄甜甜。

本文件及其所代替文件的历次版本发布情况为：

——2008年首次发布为 NY/T 1676—2008；

——本次为首次修订。



食用菌中粗多糖的测定 分光光度法

1 范围

本文件规定了食用菌中粗多糖含量的分光光度测定方法。

本文件适用于各种食用菌鲜品及干菇、片菇、碎菇、菇粉等初加工制品中粗多糖含量的测定；不适用于添加淀粉、糊精组分的食用菌产品，以及食用菌液体发酵或固体发酵等产品的测定。

本文件粗多糖线性含量范围为 1.0 g/100 g~50 g/100 g。当含量超范围时，可酌情减少称样量或加大提取液定容体积。

2 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/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

GB/T 12728 食用菌术语

NY/T 3304 农产品检测样品管理技术规范

3 术语和定义

GB/T 12728 界定的以及下列术语和定义适用于本文件。

3.1

粗多糖 crude polysaccharides

以 β -D-葡聚糖或 α -D-葡聚糖或其他碳糖为主链的一系列高分子化合物。

4 原理

多糖经微波加热提取后，醇沉去除单（二）糖。多糖在硫酸作用下，先水解成单糖，并迅速脱水生成糖醛衍生物，与苯酚反应生成橙黄色物质，该物质在 490 nm 处有特征吸收，与标准曲线比较定量。

5 试剂与材料

5.1 除非另有说明，本方法所用试剂均为分析纯试剂，实验室用水符合 GB/T 6682 中三级水的规定。

5.2 试剂

5.2.1 硫酸(H_2SO_4 ，CAS 号：7664-93-9)， $\rho=1.84$ g/mL。

5.2.2 无水乙醇($\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$ ，CAS 号：64-14-5)。

5.2.3 苯酚($\text{C}_6\text{H}_6\text{O}$ ，CAS 号：108-95-2)，重蒸馏。

5.3 溶液配制

5.3.1 80%苯酚溶液：称取 80 g 苯酚(5.2.3)于 100 mL 烧杯中，加水溶解，定容至 100 mL 后转至棕色瓶中，置于 4℃ 冰箱中避光储存。

5.3.2 5%苯酚：吸取 1 mL 苯酚溶液(5.3.1)，加 15 mL 水摇匀，现用现配。

5.4 标准品

葡萄糖($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ ，CAS 号：58367-01-4)，使用前应于 103℃ 恒温烘干至恒重。

5.5 标准溶液配制

葡萄糖标准溶液(100 mg/L)：称取 0.100 00 g 葡萄糖(5.4)于 100 mL 烧杯中，加水溶解，定容至

1 000 mL,置于 4 ℃冰箱中储存,有效期 60 d。

6 仪器和设备

- 6.1 可见分光光度计。
- 6.2 电子天平,感量 0.000 1 g 和 0.000 01 g。
- 6.3 微波消解仪,配置不小于 50 mL 的聚四氟乙烯消解内罐。
- 6.4 离心机,转速不低于 5 000 r/min。
- 6.5 控温电热板。
- 6.6 恒温水浴锅。
- 6.7 均质机。
- 6.8 粉碎机。
- 6.9 标准筛:425 μm (40 目)。
- 6.10 涡旋混合器。
- 6.11 快速滤纸。

7 分析步骤

7.1 菇粉样品中有无淀粉、糊精的判定

按附录 A 进行判定。若菇粉样品中含有淀粉、糊精,则本方法不适用于该样品的测定。若不含淀粉、糊精,则进行下一个测定步骤。

7.2 试样制备

7.2.1 鲜样

按照 NY/T 3304 进行制备。取不少于 1 000 g 食用菌鲜样,用干净纱布轻轻擦去表面附着物,切碎后,放置于均质机(6.7)中粉碎,于密封容器中 $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存备用,试样有效期为 20 d。使用前置于室温解冻后重新使用均质机(6.7)匀浆。

7.2.2 干样

按照 NY/T 3304 进行制备。取不少于 200 g 食用菌干样,先取部分放置于粉碎机(6.8)中粉碎,弃去,剩余部分再放置于粉碎机(6.8)中粉碎,全部过 425 μm 标准筛(6.9),制成待测样,于密封容器中常温保存备用。

7.3 提取

7.3.1 鲜样

称取 2 g~5 g(精确至 0.001 g)试样于微波消解仪(6.3)底部,加入 15 mL 水,涡旋混合器(6.10)混合均匀后,140 $^{\circ}\text{C}$ 微波提取 2 h。

7.3.2 干样

称取 0.2 g~0.5 g(精确至 0.000 1g)试样于微波消解仪(6.3)底部,加入 20 mL 水,涡旋混合器(6.10)混合均匀,4 $^{\circ}\text{C}$ 冷藏过夜后,涡旋混合器(6.10)再次混合均匀,140 $^{\circ}\text{C}$ 微波提取 2 h。

7.4 去除单(二)糖

将微波提取液趁热转移至 250 mL 烧杯,微波管内加水加塞振摇洗涤 3 次~4 次,每次加水 20 mL~30 mL,洗涤液并入烧杯。在烧杯内放置一根玻璃搅拌棒以防止溶液在加热过程中飞溅,将烧杯置于电热板上加热至微沸并保持,直至烧杯内无液体流动(防止烧干烧焦),立即取下,加 5 mL 水,搅拌至均匀分散状态。溶液冷却至室温后缓慢加入 75 mL 无水乙醇,边加边轻轻搅拌 30 s。将烧杯覆膜后置于 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱放置 12 h。将烧杯内容物转移至离心管,5 000 r/min 条件下离心 10 min,弃去上清液,沉淀物转移至原烧杯,洗涤离心管,洗涤液并入烧杯内。将烧杯置于电热板上加热搅拌至沉淀物分散均匀,转移至 250 mL 容量瓶中,冷却后加水定容,摇匀,快速滤纸过滤,弃去初始的 10 mL~15 mL 滤液,收集 20 mL~30 mL

滤液,待测。

7.5 标准曲线

分别吸取 0 mL、0.2 mL、0.4 mL、0.6 mL、0.8 mL、1.0 mL 葡萄糖标准溶液(5.5)置于 25mL 试管中,加水至 1.0 mL,再加入 1 mL 5% 苯酚溶液(5.3.2)摇匀,用移液器准确快速加入 5 mL 硫酸(5.2.1) (与液面垂直加入,勿接触试管壁,以便与反应液充分混合),静置 10 min 后,涡旋均匀,置于 30 ℃ 水浴中 20 min 后,490 nm 测定吸光值。以吸光值为纵坐标,以葡萄糖质量(μg)为横坐标,绘制标准曲线。

7.6 测定

吸取 0.2 mL~1.0 mL 待测液,测定同 7.5。同时做试剂空白(不称取样品,步骤同 7.3、7.4),并根据样品提取液的吸光度(扣除试剂空白吸光度)计算粗多糖含量。

8 结果计算

样品中粗多糖含量按公式(1)计算。

$$X = \frac{m_1 \times V_1}{m_2 \times V_2} \times 0.9 \times \frac{1}{10^6} \times 100 \dots\dots\dots (1)$$

式中:

- X ——试样中粗多糖含量的数值,单位为克每百克(g/100g);
- m₁ ——标准曲线对应样品测定液中含糖量的数值,单位为微克(μg);
- V₁ ——样品定容体积的数值,单位为毫升(mL);
- V₂ ——比色测定时所移取样品测定液的体积的数值,单位为毫升(mL);
- m₂ ——样品质量的数值,单位为克(g);
- 0.9 ——葡萄糖换算成葡聚糖的校正系数;
- 10⁶ ——换算系数。

计算结果以重复性条件下获得的 2 次独立测定结果的算术平均值表示,结果保留 3 位有效数字。

9 精密度

粗多糖含量小于或等于 15% 时,在重复性条件下获得的 2 次独立测试结果的绝对差值不得超过算术平均值的 18%;

粗多糖含量大于 15% 时,在重复性条件下获得的 2 次独立测试结果的绝对差值不得超过算术平均值的 10%。

附 录 A

(规范性)

菇粉样品中淀粉、糊精的定性鉴别

A.1 碘溶液的配制

称取 3.6 g 碘化钾溶于 20 mL 水中,加入 1.3 g 碘,溶解后加水稀释至 100 mL。

A.2 样品的处理

A.2.1 称取 1.0 g 粉碎过 20 mm 孔径筛的样品,置于 20 mL 具塞离心管内。

A.2.2 加入 25 mL 60℃~80℃ 水后,使用涡旋混合器(6.10)使样品充分混合或溶解,4 000 r/min 离心 10 min。

A.2.3 量取 10 mL 上清液至 20 mL 具塞玻璃试管内,加入 1 滴碘溶液,使用涡旋混合器(6.10)混合,观察是否有淀粉或糊精与碘溶液反应后呈现的蓝色或红色。

A.3 结果判定

若呈色反应为蓝色,则判定样品中含有淀粉;若呈色反应为红色,则判定样品中含有糊精。
