



中华人民共和国国家标准

GB/T 18932.6—2002

蜂蜜中甘油含量的测定方法 紫外分光光度法

Method for the determination of glycerol contents in honey—
UV spectrophotometric method

2002-12-30 发布

2003-06-01 实施

中 华 人 民 共 和 国
国家质量监督检验检疫总局 发 布

前 言

GB/T 18932—2002 分为 12 个部分,本部分为第 6 部分。

GB/T 18932 的本部分等同采用德国罗氏公司《食品中甘油含量的测定方法——紫外分光光度法》。考虑到我国标准本身的特点及汉语的表达习惯,为使该标准既与国际标准接轨,又适合我国的国情,为此,对《食品中甘油含量的测定方法——紫外分光光度法》的个别内容作了编辑性修改。

本部分遵循 GB/T 1.1—2000《标准化工作导则 第 1 部分:标准的结构和编写规则》和 GB/T 20001.4—2001《标准编写规则 第 4 部分:化学分析方法》的编写规则。

本部分的附录 A 为资料性附录。

本部分由中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局提出。

本部分由中华全国供销合作总社归口。

本部分起草单位:中华人民共和国秦皇岛出入境检验检疫局。

本部分参加起草单位:国家蜂产品质量监督检验中心。

本部分主要起草人:庞国芳、李学民、曹彦忠、范春林、张进杰、林忠、李子健。

本部分系首次发布的国家标准。

蜂蜜中甘油含量的测定方法

紫外分光光度法

1 范围

GB/T 18932 的本部分规定了蜂蜜中甘油含量紫外分光光度测定方法。

本部分适用于蜂蜜中甘油含量的测定。

本部分甘油的方法检出限为 20 mg/kg。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过 GB/T 18932 的本部分的引用而成为本部分的条款。凡是注日期的引用文件,其随后所有的修改单(不包括勘误的内容)或修订版均不适用于本部分,然而,鼓励根据本部分达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件,其最新版本适用于本部分。

GB/T 6379—1986 测试方法的精密度 通过实验室间试验确定标准测试方法的重复性和再现性(neq ISO 5725:1981)

GB/T 6682—1992 分析实验室用水规格和试验方法(neq ISO 3696:1987)

3 原理

甘油在甘油激酶催化作用下,与腺苷-5'-三磷酸盐反应生成 L-甘油-3-磷酸盐和腺苷-5'-二磷酸盐。而生成的腺苷-5'-二磷酸盐在丙酮酸盐激酶的存在下,又与磷酸烯醇丙酮酸盐反应,再转化成腺苷-5'-三磷酸盐和丙酮酸盐。丙酮酸盐在 L-乳酸盐脱氢酶的作用下,被烟酰胺腺嘌呤二核苷酸还原为 L-乳酸盐。通过在 340 nm 测定烟酰胺腺嘌呤二核苷酸消耗量,计算出甘油含量。

4 试剂和材料

4.1 溶液-I:2.0 g 辅酶和甘氨酸缓冲溶液的混合物,pH=7.4。其中缓冲溶液中含有烟酰胺腺嘌呤二核苷酸,7 mg;腺苷-5'-三磷酸盐,22 mg;磷酸烯醇丙酮酸盐,11 mg;硫酸镁;稳定剂。贮存在 4℃ 冰箱里。使用前在室温下放置 1 h,加入 11 mL 水,使之完全溶解,摇匀。

4.2 溶液-II:0.4 mL 的悬浊液。含有丙酮酸盐激酶,240 U;L-乳酸盐脱氢酶,220 U。贮存在 4℃ 冰箱里。使用前在室温下放置 1 h。

4.3 溶液-III:甘油激酶悬浊液,34 U。贮存在 4℃ 冰箱里。使用前在室温下放置 1 h。

4.4 甘油标准溶液:394 mg/L。贮存在 4℃ 冰箱里。使用前在室温下放置 1 h。仅作为测定质量监控用,测定值与给定值允许差为 5%。

4.5 水为 GB/T 6682—1992 规定的二级水。

5 仪器

5.1 紫外分光光度计。

5.2 比色皿:1 cm 光路。

5.3 天平:感量 0.1 mg。

5.4 微量注射器:100 μ L。

6 试样制备与保存

6.1 试样的制备

对无结晶的实验室样品,将其搅拌均匀。对有结晶的样品,在密闭情况下,置于不超过 60℃ 的水浴中温热,振荡,待样品全部融化后搅匀,迅速冷却至室温。分出 0.5 kg 作为试样。制备好的试样置于样品瓶中,密封,并标明标记。

6.2 试样的保存

将试样于常温下保存。

7 分析步骤

7.1 试样测定液的制备

称取 1 g 试样,精确到 1 mg,置于 100 mL 三角瓶中,加水(4.5)使试样完全溶解,定容至 20 mL。

7.2 测定

7.2.1 紫外分光光度计测定条件

- 波长:340 nm;
- 温度:20℃~25℃;
- 参比物:空气;
- 光源:氘灯。

7.2.2 紫外分光光度法测定

取三个比色皿,分别用于空白溶液、试样测定液和标准溶液的测定。

- 对盛空白溶液、试样测定液和标准溶液的比色皿中分别加入 1 mL 溶液-I (4.1);
- 对盛空白溶液的比色皿中加入 2 mL 水;对盛试样测定液的比色皿中加入 2 mL 试样测定液 (7.1);对盛标准溶液的比色皿中加入 0.10 mL 标准溶液(4.4)和 1.9 mL 水;
- 对盛空白溶液、试样测定液和标准溶液的比色皿中分别加入 0.010 mL 溶液-II (4.2);
- 将比色皿内溶液充分混合,待反应 10 min 后,用紫外分光光度计在 340 nm 的波长处连续测定空白溶液、试样测定液和标准溶液的吸光度各 10 次,分别计算各自吸光度的平均值 A_1 ;
- 对盛空白溶液、试样测定液和标准溶液的比色皿中分别加入 0.010 mL 溶液-III (4.3);
- 操作步骤同 d),分别计算各自吸光度的平均值 A_2 ;
- 本方法的添加回收率数据参见附录 A。

7.3 平行试验

按上述步骤,对同一试样进行平行试验测定。

8 结果计算

根据上面的测定,分别求出空白溶液和试样测定液两次测定吸光度的差值($A_1 - A_2$),用试样测定液吸光度的差值减去空白溶液吸光度的差值,求出 ΔA ,即:

$$\Delta A = (A_1 - A_2)_{\text{样品}} - (A_1 - A_2)_{\text{空白}} \quad \dots\dots\dots (1)$$

蜂蜜中甘油的含量按式(2)计算:

$$C = 440 \times \Delta A \quad \dots\dots\dots (2)$$

式中:

C——试样中甘油含量,单位为毫克每千克(mg/kg);

ΔA ——由式(1)计算求出;

440——由甘油相关的物理常数计算得出。

9 精密度

GB/T 18932 的本部分精密度数据是按照 GB/T 6379—1986 的规定,通过 15 个实验室对四个添加水平的试样所做的试验中确定的。获得重复性和再现性的值是以 95% 的可信度来计算。

9.1 重复性

在重复性条件下,获得的两次独立测试结果的绝对差值不超过重复性限(r),本部分的重复性限按方程式(3)计算:

蜂蜜中甘油的含量在 20 mg/kg~394 mg/kg 范围:

$$\lg r = 1.1401 \lg m - 1.5949 \quad \dots\dots\dots(3)$$

式中:

m ——两次测定值的平均值,单位为毫克每千克(mg/kg)。

如果两次测定值的差值超过重复性限,应舍弃试验结果并重新完成两次单个试验的测定。

9.2 再现性

在再现性条件下,获得的两次独立测试结果的绝对差值不超过再现性限(R),本部分再现性限按方程式(4)计算:

蜂蜜中甘油的含量在 20 mg/kg~394 mg/kg 范围:

$$\lg R = 1.0529 \lg m - 1.2138 \quad \dots\dots\dots(4)$$

式中:

m ——两次测定值的平均值,单位为毫克每千克(mg/kg)。

附 录 A
(资料性附录)
回 收 率

本方法中甘油添加浓度及回收率的试验数据:

在添加量为 20 mg/kg 时,平均回收率为 97.2%;

在添加量为 100 mg/kg 时,平均回收率为 97.8%;

在添加量为 200 mg/kg 时,平均回收率为 97.9%;

在添加量为 394 mg/kg 时,平均回收率为 98.3%。