

紫外分光光度法测定蜂蜜中的脯氨酸含量

UV-040

摘要：本文参考 SN/T 0805-2000《进出口蜂蜜中脯氨酸的测定方法 分光光度法》标准，采用紫外分光光度法测定了蜂蜜中脯氨酸含量，实验结果表明，该方法线性良好， r^2 为 0.99921，RSD 为 0.17%，回收率在 100.5~103.9% 之间，测得两种品牌蜂蜜中脯氨酸含量分别为 246.20 和 70.79 mg/kg。该方法通过检测蜂蜜中脯氨酸含量对评价蜂蜜的质量有着很好的指导作用。

关键词：紫外分光光度法 蜂蜜 脯氨酸

蜂蜜，是昆虫蜜蜂从开花植物的花中采得的花蜜在蜂巢中酿制的蜜。蜂蜜的成分复杂，营养丰富，除了葡萄糖、果糖之外还含有各种维生素、矿物质和氨基酸。由于蜂蜜中脯氨酸含量高且较稳定，对人体的营养保健具有重大作用。蜂蜜中的脯氨酸主要来源于蜜源植物的花蜜和蜜蜂自身的分泌物。在蜜蜂体中，脯氨酸作为蜜蜂新陈代谢的重要组成部分，由蜜蜂自身的三羧酸循环

代谢中产生，并富集于蜜蜂的血淋巴液中，影响蜜蜂的新陈代谢。有文献报道说有人提出将脯氨酸含量作为评价蜂蜜质量的指标。到目前为止，蜂蜜含有的多种氨基酸中只有脯氨酸可以作为评价蜂蜜质量和判断蜂蜜是否掺假。所以检测蜂蜜中脯氨酸含量对评价蜂蜜的质量有着很好的指导作用。

实验部分

1.1 实验原理

蜂蜜中的脯氨酸与茚三酮作用生成棕色络合物，该络合物在 510 nm 处有最大吸收。在一定浓度范围内，脯氨酸含量与吸光度值符合朗伯-比尔定律。

1.2 仪器配置

UV-2600 (岛津)

10 mm 石英比色皿

1.3 试剂

异丙醇溶液：量取 50 mL 异丙醇加水稀释到 100 mL。

茚三酮-乙二醇甲醚溶液：称取 3 g 茚三酮溶于 100 mL 乙二醇甲醚。

脯氨酸标准储备液：精确称取 0.025 g 脯氨酸标准品用水溶解并定容到 100 mL。此溶液每毫升相当于 250 μg 脯氨酸。

脯氨酸标准工作液：准确量取 10 mL 脯氨酸标准储备液于 100 mL 容量瓶，用水定容，此溶液每毫升相当于 25 μg 脯氨酸。

测定步骤

2.1 标准曲线绘制

准确吸取脯氨酸标准溶液 0.0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.00 mL (相当于分别含有 0, 5, 10, 15, 20, 25 μg 脯氨酸)，分别移入具塞试管，加水补充到 1 mL，分别加入 0.25 mL 甲酸和 1.0 mL 茚三酮-乙二醇甲醚溶液。盖紧瓶盖，在沸水浴中加热 15 min，取出，移入 70 $^{\circ}\text{C}$ 恒温水浴中继续发色 10 min。加入 5 mL 异丙醇溶液，放置 5 min 后，在波长 510 nm 处以试剂空白调节零点，测定吸光度，绘制标准曲线。

2.2 样品前处理

分别称量 5 g 样品，用水溶解后移入 100 mL 容量瓶中，加水稀释至刻度，充分摇匀。准确吸取样品溶液 0.5~1.0 mL，移入具塞试管中，加水补充到体积 1 mL 后，按照标准曲线绘制中同样步骤操作，测定吸光度，并从标准曲线上查出的脯氨酸的含量。

实验结果

3.1 标准曲线

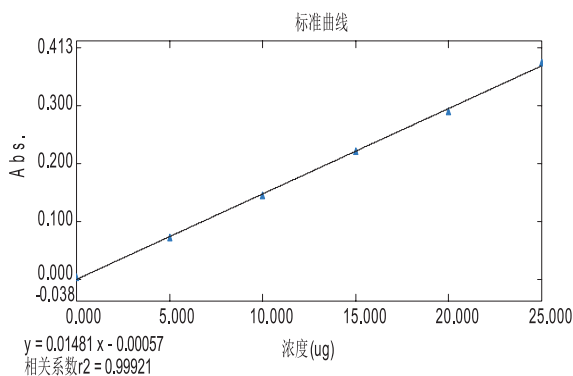


图 1 工作曲线图

在 0 ~ 25 μg 浓度范围内, 脯氨酸含量与吸光度值有着良好的线性关系, 相关系数 $r^2=0.99921$ 。

3.2 样品测定结果

分别测定 1 #、2 # 两个品牌蜂蜜中的脯氨酸含量, 测定结果如下:

表 1 样品测定结果

样品名称	称样量 (g)	量取体积 (mL)	测定值 (μg)	含量 (mg/kg)
1#	5.11	0.5	6.294	246.20
2#	4.98	0.8	2.821	70.79

3.3 精密度实验

在选定实验条件下对 1 # 样品连续测定 11 次, 测得 RSD 为 0.17%。

3.4 回收率实验

在 1 # 样品中分别加入 0.5 mL, 0.4 mL, 0.2 mL 脯氨酸标准工作液 (相当于加入 12.5 μg , 10 μg , 5 μg 脯氨酸), 测试计算回收率。

表 2 样品回收率

样品名称	本底量 (μg)	加标量 (μg)	测定值 (μg)	回收率 (%)
1#		12.5	19.529	103.9
	6.294	10	16.683	102.4
		5	11.348	100.5

结论

本文参考 SN/T 0805-2000《进出口蜂蜜中脯氨酸的测定方法 分光光度法》标准, 使用岛津 UV-2600 分光光度计测定了蜂蜜中脯氨酸含量, 采用紫外分光光度法测定了蜂蜜中脯氨酸含量, 实验结果表明, 该方法线性良好, r^2 为 0.99921, RSD 为 0.17%, 回收率在 100.5~103.9 % 之间, 测得两种品牌蜂蜜中脯氨酸含量分别为 246.20 和 70.79 mg/kg。该方法通过检测蜂蜜中脯氨酸含量对评价蜂蜜的质量有着很好的指导作用。