

紫外分光光度法测定蜂蜜中的甘油含量

UV-050

摘要: 本文参考 GB/T 18932.6-2002《蜂蜜中甘油含量的测定方法 紫外分光光度法》，采用紫外分光光度法测定了蜂蜜中甘油含量，实验结果测得两种品牌蜂蜜中甘油含量分别为 213 和 228 mg/kg，标准样品测定值与实际值差 2.5%，小于规定的 5%。该方法通过检测蜂蜜中甘油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 甘油

不成熟蜂蜜或掺有不成熟蜜的蜂蜜含酵母菌量极高，经过加工之后，显微镜下可观察到死酵母菌的存在；蜂蜜中甘油含量通常是判别蜂蜜发酵或终止发酵的依据。蜂蜜进口国通常以酵母菌与甘油等指标作为判断不成熟

蜂蜜的测试方法。本文参考 GB/T 18932.6-2002《蜂蜜中甘油含量的测定方法 紫外分光光度法》测定了两种品牌蜂蜜中甘油含量。

实验部分

1.1 实验原理

甘油在甘油激酶催化作用下，与腺苷-5'-三磷酸反应生成 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。

1.2 仪器配置

UV-2600 (岛津)；10 mm 石英比色皿

1.3 试剂

1.3.1 溶液-I: 2.0 g 辅酶和甘氨酸缓冲液的混合物，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。使用前加入 11 mL 水，使之完全溶解，摇匀。

1.3.2 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。

1.3.3 溶液-III: 甘油激酶悬浊液，34 U。

1.3.4 甘油标准溶液，393 mg/L。仅作为测定质量监控用，测定值与给定值允许误差为 5%。

测定步骤

2.1 样品前处理

分别称蜂蜜 1#2.7978 g，2#2.6397 g，1-1# (1# 的平行样品) 2.7302 g，置于 100 mL 三角瓶中，加水使试

剂完全溶解，定容至 20 mL。

2.2 样品测定

取三个试剂瓶，分别用于空白溶液、试剂测定液和标准溶液的测定。

2.2.1 在盛空白溶液、试剂溶液和标准溶液的试剂瓶中分别加入溶液-I (1.3.1)；

2.2.2 在盛空白溶液的试剂瓶中加入 2 mL 水；在盛试剂测定液的容量瓶中加入 2 mL 试剂测定液 (2.1)；对盛标准溶液的容量瓶中加入 0.10 mL 标准溶液 (1.3.4) 和 1.9 mL 水；

2.2.3 在盛空白溶液、试剂测定液和标准溶液的试剂瓶中分别加 0.010 mL 溶液-II (1.3.2)；

2.2.4 将试剂瓶中溶液充分混匀，反应 10 min 后，用 UV-2600 在 340 nm 处连续测定，对空白溶液、试剂测定液和标准溶液的吸光度值各测试 10 次，并分别计算各自吸光度的平均值 A_1 ；

2.2.5 对盛空白溶液、试剂测定液和标准溶液的试剂瓶中分别加入 0.001 mL 溶液-II (1.3.3)，操作步骤同 2.2.4，分别计算各自吸光度的平均值 A_2 。

实验结果

3.1 计算公式

根据上面的测定， $\Delta A = (A_1 - A_2)$ 样品 - $(A_1 - A_2)$ 空白；甘油含量根据以下公式计算浓度：

$$C = 440 \times \Delta A \text{ (mg/L)}$$

当分析固体或半固体时，测量前需称一定重量配制样品溶液，其结果需按下式计算

$$C = \frac{C(\text{g/L})}{W} \times 100 (\text{g/100 g})$$

3.2 测定数据

吸光度	空白 溶液	1# 样品	2# 样品	1-1# 样品	标准 样品
A1	1.20435	1.50756	1.52129	1.49783	1.41477
A2	1.19544	0.14366	0.14476	0.16258	0.53446
A1-A2	0.00891	1.3639	1.37653	1.33525	0.88031

3.3 计算结果

样品 名称	1# (mg/kg)	2# (mg/kg)	1-1# (mg/kg)	标准样 (mg/L)
结果	213.1	228.0	213.8	383.4

标准样品实际配制浓度为 393 mg/L，测定值为 383.4 mg/L，误差为 2.5%，小于规定的 5%。

■ 结论

本文参考 GB/T 18932.6-2002《蜂蜜中甘油含量的测定方法 紫外分光光度法》，采用紫外分光光度法测定了蜂蜜中甘油含量，实验结果测得两种品牌蜂蜜中甘油含量分别为 213 和 228 mg/kg，标准样品测定值与实际值差 2.5%，小于规定的 5%。该方法通过检测蜂蜜中甘油含量对评价蜂蜜的质量有着很好的指导作用。