

汤小芳,张海波,祁贵国.市售蜂蜜中糖类成分含量的快速测定[J].江苏农业科学,2013,41(10):270-271.

市售蜂蜜中糖类成分含量的快速测定

汤小芳,张海波,祁贵国

(南京理工大学泰州科技学院化工学院,江苏泰州 225300)

摘要:采用硫酸-苯酚法测定蜂蜜总糖含量,利用旋光度法测定蜂蜜水解前后旋光度,并计算蜂蜜中葡萄糖、果糖和蔗糖含量。结果表明,10 种蜂蜜总糖含量为 66.28% ~ 93.71% 之间,蔗糖含量在 1.37% ~ 2.55%,都符合 GB 18796—2005《蜂蜜》标准。该方法操作简便、结果准确,可适用于大批量蜂蜜样品中糖分含量的快速测定。

关键词:旋光法;蜂蜜;葡萄糖;果糖;蔗糖

中图分类号: TS241 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2013)10-0270-02

蜂蜜具有较高的营养价值和药用价值,被广泛应用在中成药和食品中。蜂蜜组成成分复杂,可检出成分在 20 种以上^[1-2],其中蔗糖、葡萄糖和果糖占 65% ~ 80%,为蜂蜜的主要成分,其相对含量是蜂蜜的主要指标。

测定蜂蜜中糖含量的传统方法有多种,测总含糖量的方法有苯酚-硫酸法、蒽酮比色法等;测定还原糖含量的方法有 3,5-二硝基水杨酸法、斐林氏法、铁氰化钾法等。如果同时测定葡萄糖、果糖和蔗糖的含量,则需要繁多的步骤,并且操作复杂。本试验根据蜂蜜主要成分葡萄糖、果糖和蔗糖旋光度的不同,采用旋光法测定蜂蜜水解前后旋光度,结合总糖含量,计算出蔗糖、葡萄糖和果糖的含量^[3],这为批量快速测定蜂蜜样品中糖分含量提供了一种较适用的方法。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

仪器:WZZ-2B 型自动旋光仪(上海精密科学仪器有限公司);AL104 型电子天平(梅特勒-托利多公司);722N 型可见分光光度计(上海精密科学仪器有限公司);HH-1 型数显恒温水浴锅(金坛市杰瑞尔电器有限公司)。试剂:蔗糖、葡萄糖、苯酚、盐酸、氢氧化钠、浓硫酸,均为分析纯;试验用水为蒸馏水。

1.2 蜂蜜来源

a:蜂博士牌洋槐花蜂蜜,购于时代超市,棕色、无结晶;b:九峰堂牌洋槐花蜂蜜,购于时代超市,浅黄色、有结晶;c:贝乐贝牌紫云英蜂蜜,购于易初莲花,浅黄色、无结晶;d:螯蜂园牌洋槐花蜂蜜,购于时代超市,浅黄色、有结晶;e:九峰堂牌枸杞蜂蜜,购于时代超市,棕色、无结晶;f:跨海牌洋槐花蜂蜜,购于易初莲花,浅黄色、无结晶;g:千花伴牌洋槐花蜂蜜,购于易初莲花,浅黄色、有结晶;h:金陵花牌油菜花蜂蜜,购于世纪联华,白色、有结晶;i:九峰堂牌洋槐花蜂蜜,购于世纪联华,棕色、无结晶;j:九峰堂牌紫椴花蜂蜜,购于世纪联华,浅黄色、有结晶。

1.3 试验原理及数据处理

蜂蜜中蔗糖被稀酸水解,产生等量的 D-葡萄糖和 D-果糖^[4-5]: $C_{12}H_{22}O_{11} \xrightarrow{\text{水解}} C_6H_{12}O_6 + C_6H_{12}O_6$ 。葡萄糖、果糖和蔗糖旋光度分别为:蔗糖 $[\alpha]_D^{20} = +66.60^\circ$,D-葡萄糖 $[\alpha]_D^{20} = +52.50^\circ$,D-果糖 $[\alpha]_D^{20} = -91.9^\circ$,旋光度有加合性,其数值与糖分含量里线性关系。

蜂蜜水解前旋光度 α_1 与蔗糖、葡萄糖和果糖含量关系: $\alpha_1 = 52.5X + 66.6Y - 91.9Z$;蜂蜜完全水解后旋光度 α_2 与蔗糖、葡萄糖和果糖含量关系: $\alpha_2 = 52.5(X + Y) - 91.9(Y + Z)$,总糖含量 G 和葡萄糖含量 X、蔗糖含量 Y 和果糖含量 Z 关系: $G = X + Y + Z$;可得出如下计算关系^[6]: $X = 0.636G - 3.435 \times 10^{-3}\alpha_1 + 10.36 \times 10^{-3}\alpha_2$; $Y = 9.434 \times 10^{-3}(\alpha_1 - \alpha_2)$; $Z = 0.364G - 5.999 \times 10^{-3}\alpha_1 - 0.926 \times 10^{-3}\alpha_2$ 。

1.4 试验步骤

1.4.1 总糖含量测定

1.4.1.1 标准曲线的绘制 采用硫酸-苯酚法测定总糖含量^[7]。分别移取 40 $\mu\text{g/mL}$ 葡萄糖标准溶液 0.0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2、1.4、1.6 mL 于刻度试管中,用蒸馏水补至 2.0 mL,加入 6% 苯酚 1.0 mL 和浓硫酸 5.00 mL,摇匀冷却,室温放置 20 min 后,以 0 $\mu\text{g/mL}$ 葡萄糖溶液为参比,在波长 490 nm 处测不同浓度的葡萄糖溶液吸光度,以吸光度(x)对葡萄糖浓度(y)绘制标准曲线,获得线性回归方程为 $y = 0.007x (r^2 = 0.9997)$,葡萄糖浓度在 0 ~ 8 $\mu\text{g/mL}$ 范围内吸光度与浓度之间呈现良好的线性关系。

1.4.1.2 蜂蜜总糖含量测定 称取蜂蜜 5.00 g,加于 40 $^\circ\text{C}$ 蒸馏水充分搅匀后,转移至 100.0 mL 容量瓶中,定容至刻度线;取 1.0 mL 蜂蜜稀释液于试管中,先加蒸馏水 1.0 mL,再加入 6% 苯酚 1.0 mL 和浓硫酸 5.0 mL,摇匀冷却,以 1.0 mL 水按同样操作作为空白对照,室温放置 20 min 后,在波长 490 nm 处测吸光度,每种蜂蜜平行测定 2 次。将待测蜂蜜样品的吸光度代入回归方程,可得蜂蜜样品中葡萄糖的浓度,进而可计算出蜂蜜样品中总糖含量。

1.4.2 蜂蜜水解前旋光度 α_1 测定 称取 10.00 g 蜂蜜于烧杯中,加入 50.0 mL 40 $^\circ\text{C}$ 蒸馏水使其溶解,转入 100 mL 容量瓶中并定容至刻度线。配制的溶液应是透明无杂质,否则需过滤。用待测液润洗旋光仪样品管 3 次,装样后,样品管放入

收稿日期:2013-03-06

作者简介:汤小芳(1982—),女,江苏南通人,硕士,讲师,主要从事有机化学和有机分析研究。Tel:(0523) 86150058;E-mail:754477121@qq.com。

20 ℃ 水浴恒温 10 min 后,将样品管擦干,放入旋光仪内,盖上盖子,测定旋光度 α_1 。每种蜂蜜平行测定 2 次。

1.4.3 蜂蜜完全水解后旋光度 α_2 测定 称取蜂蜜 10.00 g 于 100 mL 烧杯中,加入 50.0 mL 40 ℃ 蒸馏水使其溶解,转入 100 mL 容量瓶中,并用 50.0 mL 4 mol/L 盐酸溶液定容至刻度线;将溶液转入锥形瓶中,在 70 ℃ 水浴中恒温 2 h 后,冷却至室温,用待测液润洗旋光仪样品管 3 次,装样后,样品管放入 20 ℃ 水浴恒温 10 min 后,将样品管擦干,放入旋光仪内,盖上盖子,测定旋光度 α_2 。每种蜂蜜平行测定 2 次。

2 结果与分析

2.1 蔗糖完全水解条件的选择

2.1.1 催化剂选择 将 5% 蔗糖溶液平均分成 3 份,第一份作空白试验,第二份加 4 mol/L 氢氧化钠 5.0 mL,第三份加 4 mol/L 盐酸 5.0 mL,在 20 ℃ 水浴下测量不用时刻的旋光度,发现 4 mol/L 盐酸能催化蔗糖溶液快速水解。

2.1.2 温度与时间选择 将 5% 蔗糖溶液平均分成 4 份,分别加 4 mol/L 盐酸作催化剂,在 10、30、60、70 ℃ 下测定不同时刻的旋光度,发现蔗糖溶液在 70 ℃ 下水解 2 h 后旋光度不再改变,蔗糖完全水解。

2.2 各品牌蜂蜜葡萄糖、果糖和蔗糖含量

由表 1 可见,10 种蜂蜜总糖含量在 66.28% ~ 93.71% 之间,都不小于 60%,蔗糖含量在 1.37% ~ 2.55%,都不超过 5%,这 10 种蜂蜜都符合 GB 18796—2005《蜂蜜》标准^[8]。

表 1 不同蜂蜜中总糖、蔗糖、葡萄糖和果糖含量测定结果

蜂蜜样品	平行样	$D_{490\text{ nm}}$	总糖含量 (%)	α_1	α_2	葡萄糖含量 (%)	果糖含量 (%)	蔗糖含量 (%)
a	A1	0.032	73.14	-0.720	-3.215	43.44	27.35	2.35
	A2	0.033	75.43	-0.721	-3.213	44.89	28.17	2.35
b	B1	0.041	93.71	-0.006	-2.147	57.34	34.31	2.02
	B2	0.040	91.43	-0.005	-2.147	55.93	33.48	2.02
c	C1	0.029	66.28	-3.000	-5.700	37.28	26.45	2.55
	C2	0.030	68.57	-2.980	-5.670	38.76	27.27	2.54
d	D1	0.036	82.29	-0.006	-1.606	50.67	30.11	1.51
	D2	0.036	82.29	-0.006	-1.606	50.67	30.11	1.51
e	E1	0.030	68.57	-4.280	-5.880	38.99	28.07	1.51
	E2	0.031	70.86	-4.280	-5.880	40.46	28.91	1.51
f	F1	0.029	66.28	-2.200	-3.660	39.12	25.78	1.38
	F2	0.030	68.57	-2.200	-3.660	40.57	26.62	1.38
g	G1	0.037	84.57	-0.004	-1.452	52.28	30.92	1.37
	G2	0.041	93.71	-0.004	-1.452	58.09	34.25	1.37
h	H1	0.036	82.29	-0.007	-1.642	50.64	30.11	1.54
	H2	0.035	80.00	-0.006	-1.641	49.18	29.28	1.54
i	I1	0.033	75.43	-0.815	-3.365	44.77	28.26	2.40
	I2	0.036	82.29	-0.816	-3.364	49.13	30.75	2.40
j	J1	0.037	84.57	-0.003	-2.130	51.58	30.98	2.01
	J2	0.038	86.86	-0.003	-2.131	53.04	31.82	2.01

3 小结

本试验采用硫酸-苯酚法测定各种蜂蜜中总糖含量,采用旋光度法测定各种蜂蜜的旋光度 α_1 和旋光度 α_2 ,根据旋光度与物质浓度含量呈线性相关,结合蜂蜜中总糖含量,求得蜂蜜中葡萄糖、果糖、蔗糖含量,该方法操作方便,计算简单,结果令人满意,适用于大批量蜂蜜样品中糖分含量的快速测定。

参考文献:

[1]李 滨,曹 艳,李燕敏,等. 蜂蜜中糖类测量方法的研究[J]. 中医药学报,2002(2):43-44.
[2]冯立彬,武 生,张晓冬. 蜂蜜中糖类成分的分离及含量测定

[J]. 中医药学报,2004,32(3):26-27.
[3]顾大明,鲍治宇,冯立彬. 用旋光法测定蜂蜜主要成分含量的研究[J]. 哈尔滨建筑大学学报,2000,33(4):124-126.
[4]陆国元. 有机化学[M]. 南京:南京大学出版社,2010:113-114.
[5]华东理工大学有机化学教研组. 有机化学[M]. 北京:高等教育出版社,2008:58-59.
[6]彭东军,刘志龙,王晓源. 旋光法测蜂蜜含糖量的研究[J]. 黑龙江医药,2003,16(5):422-423.
[7]张治良,张 蕾,李 鲁. 蜂产品应用技术[M]. 哈尔滨:黑龙江人民出版社,1997.
[8]李子健. 认真贯彻实施 GB 18796—2005《蜂蜜》强制性国家标准[J]. 蜜蜂杂志,2006,3(3):5-8.