

中华人民共和国国家标准

GB/T 21533—2008

蜂蜜中淀粉糖浆的测定 离子色谱法

Determination of starch syrupy in honey—Ion chromatography

2008-04-09 发布

2008-09-01 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局 发布
中国国家标准化管理委员会

前 言

本标准的附录 A 为资料性附录。

本标准由中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局提出。

本标准由中华全国供销合作总社归口。

本标准起草单位：大连市产品质量监督检验所。

本标准主要起草人：潘炜、王春燕、郑顺利、于利军、牟世芬、张明、李鹏、董广彬、李海燕、姜俊。

本标准首次发布。

蜂蜜中淀粉糖浆的测定 离子色谱法

1 范围

本标准规定了蜂蜜中果葡糖浆、麦芽糖浆、异麦芽糖浆、饴糖浆等淀粉糖浆的测定方法。

本标准适用于蜂蜜中淀粉糖浆的测定。

本标准检出限:5%淀粉糖浆。

2 原理

蜂蜜中不含五糖(DP5)以上的寡糖,而各种淀粉糖浆中均含五糖(DP5)以上的寡糖,使用凝胶体积排阻法去除样品中果糖、葡萄糖,将寡糖富集后直接经阴离子交换色谱-电化学检测器检测,将五糖(DP5)以上寡糖的存在作为蜂蜜中淀粉糖浆的判定指标。

3 试剂和材料

除非另有说明,所用试剂为分析纯,所用水为 18.2 MΩ/cm 的高纯水。

3.1 聚丙烯酰胺凝胶微球,粒径 45 μm~90 μm,分级分离的相对分子质量范围 100~1 800,按使用说明书进行水化和脱气。

注:可使用 Bio-Gel® P-2 Gel 型聚丙烯酰胺凝胶或同等性能的凝胶材料。

3.2 凝胶层析柱:将聚丙烯酰胺凝胶(3.1)湿法装入 1.5 cm×15 cm 空柱管中,装入的凝胶高度为 10 cm,上端保持 1 cm 以上的水层,避免干涸。

3.3 层析柱架。

3.4 麦芽糖标准储备液:分别称取色谱纯麦芽糖、麦芽三糖、麦芽四糖、麦芽五糖、麦芽六糖、麦芽七糖标准物质各 10.0 mg,用水分别溶解定容至 10 mL,配制成浓度为 1 mg/mL 的储备液,于棕色瓶中 4℃ 下储存。

3.5 麦芽糖标准混合使用液:吸取一定量的麦芽糖标准储备液(3.4),按表 1 用水配制麦芽糖标准混合使用液,在 4℃ 下保存不超过 30 d。该溶液用于样品色谱图中寡糖保留时间的定位。

表 1 麦芽糖标准混合使用液的配制

标准物质	麦芽糖	麦芽三糖	麦芽四糖	麦芽五糖	麦芽六糖	麦芽七糖
储备液吸取量/mL	0.10	0.20	0.30	0.40	0.50	1.00
定容体积/mL	10					
混合使用液浓度/(μg/mL)	10	20	30	40	50	100

3.6 50%氢氧化钠储备液:符合离子色谱使用纯度。

3.7 无水乙酸钠:符合离子色谱使用纯度。

3.8 0.45 μm 样品滤膜:水性。

4 仪器

4.1 离子色谱仪:配电化学检测器。

4.2 分析天平:感量 0.1 mg。

5 试样制备

5.1 称取混匀的蜂蜜 2.0 g 作为试样,用水溶解后定容至 20 mL,用 0.45 μm 水性滤膜过滤,滤液

备用。

5.2 将准备好的聚丙烯酰胺凝胶层析柱(3.2)中的水放尽,至下端无水珠滴下时,将样品滤液(5.1) 2.0 mL沿柱壁慢慢加入层析柱中,恰好流至凝胶上方无液时,加入 3.0 mL 水冲洗柱壁,又至凝胶上方无液时,再加入 5.0 mL 水冲洗凝胶柱。注意每次在层析柱上方加液(或水)的时机,应是前次加液(或水)的层析柱体上端液体恰好流尽、下端恰好无液体滴出。弃去上述三次共 10.0 mL 流出液后,于层析柱下方接上一支 2 mL 具塞塑料离心管,从柱上方加入 2 mL 水,收集这 2 mL 流出液至离心管中,盖紧离心管塞,摇匀后作为待测样品溶液,24 h 之内测定。层析柱中加入 50 mL 水冲洗,至全部流出后,该柱直接用于处理下一个样品。

5.3 将纯蜂蜜作为阴性对照品,蜂蜜中掺入 5%市售果葡糖浆、蜂蜜中掺入 5%市售麦芽糖浆的样品作为阳性对照品,按照 5.1 和 5.2 进行操作。

6 测定

6.1 离子色谱条件

6.1.1 色谱柱:CarboPac™PA200 3 mm×250 mm (带 CarboPac™PA200 3 mm×50 mm 保护柱)或相当性能的分离柱,柱温 30℃。

6.1.2 流动相:A:100%水;B:200 mmol/L 氢氧化钠,200 mmol/L 乙酸钠。梯度洗脱条件见表 2。

表 2 梯度洗脱条件

时间/min	流速/(mL/min)	流动相/%		曲线
		A	B	
0	0.4	90	10	线性
5	0.4	90	10	线性
20	0.4	70	30	线性
30	0.4	70	30	线性
40	0.4	90	10	线性
60	0.4	90	10	线性

6.1.3 检测器:电化学检测器;Au 工作电极;Ag/AgCl 参比电极。检测池温度 30℃。糖检测波形参见表 3。

表 3 糖检测波形

时间/s	电位/V	积分	时间/s	电位/V	积分
0.00	+0.10	—	0.42	-2.00	—
0.20	+0.10	开始	0.43	+0.60	—
0.40	+0.10	结束	0.44	-0.10	—
0.41	-2.00	—	0.50	-0.10	—

6.1.4 进样量:20 μL。

6.2 样品测定

依次将麦芽糖标准混合使用液(3.5)、纯蜂蜜阴性对照品(5.3)、含 5%果葡糖浆的蜂蜜(5.3)和含 5%麦芽糖浆的蜂蜜等阳性对照品(5.3)的寡糖收集液注入离子色谱仪中,观察离子色谱图,当谱图与附录 A 中参考谱图基本吻合时,方可进行实测样品的测试。

7 结果判定

分析比较纯蜂蜜阴性对照样品和含 5%糖浆的蜂蜜阳性对照样品的寡糖谱图,找到两者之间有明

显差异的“指纹区”，并以此作为纯蜜中掺入淀粉糖浆的判定指标。任一掺入果葡糖浆的蜂蜜样品，在麦芽五糖至麦芽六糖之间和麦芽六糖至麦芽七糖之间有两个典型的“指纹峰”P1 和 P2，根据这两个峰的出现可判断蜂蜜中掺入果葡糖浆。任一掺入麦芽糖浆的蜂蜜样品，在麦芽五糖至麦芽六糖之间、麦芽六糖至麦芽七糖之间以及麦芽七糖之后，有三个典型的“指纹峰簇”P1、P2 和 P3，根据这三个峰簇的出现可判断蜂蜜中掺入麦芽糖浆（包括高麦芽糖浆、异麦芽糖浆和饴糖糖浆）。除了描述出的基本特点外，不同工艺条件下生产的糖浆还可见到其他出峰位置有其他峰形特征的微量寡糖峰，但不影响“指纹区”的基本特征和判定。

麦芽糖标准混合使用液、纯蜂蜜、含 5% 果葡糖浆的蜂蜜、含 5% 麦芽糖浆的蜂蜜的寡糖离子色谱图参见图 A. 1、图 A. 2、图 A. 3、图 A. 4。

附录 A
(资料性附录)

蜂蜜中淀粉糖浆测定的相关色谱图

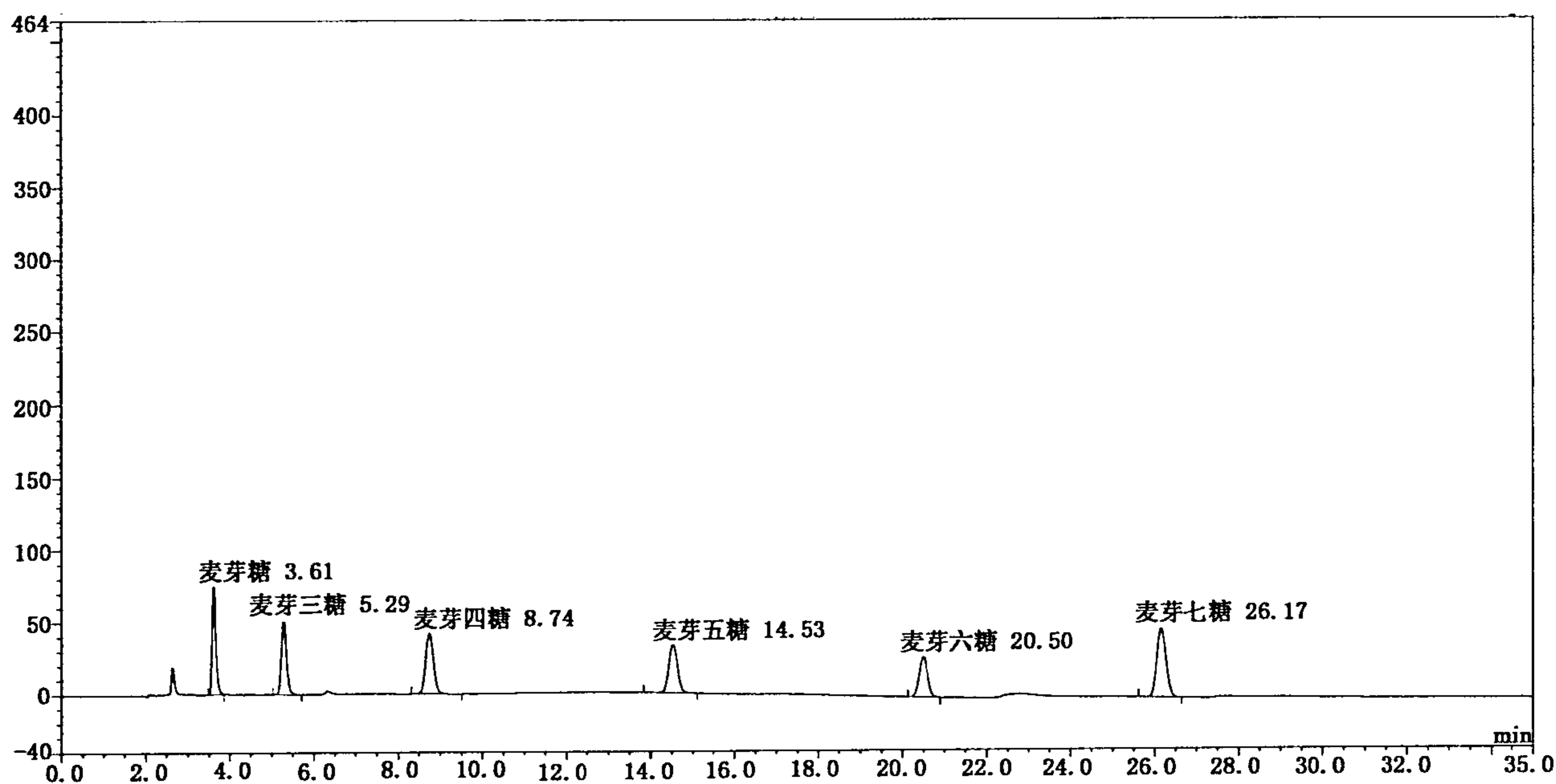
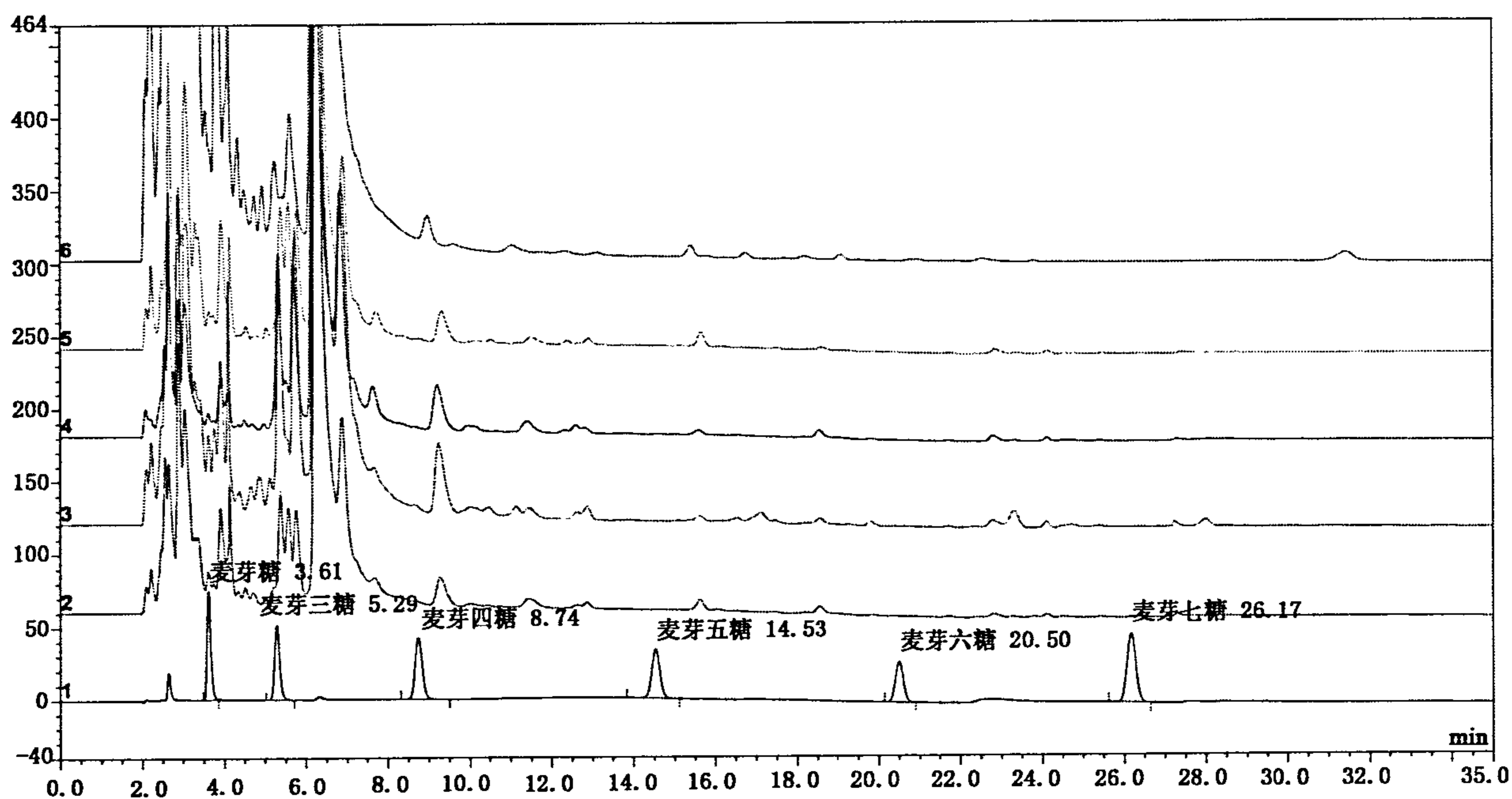
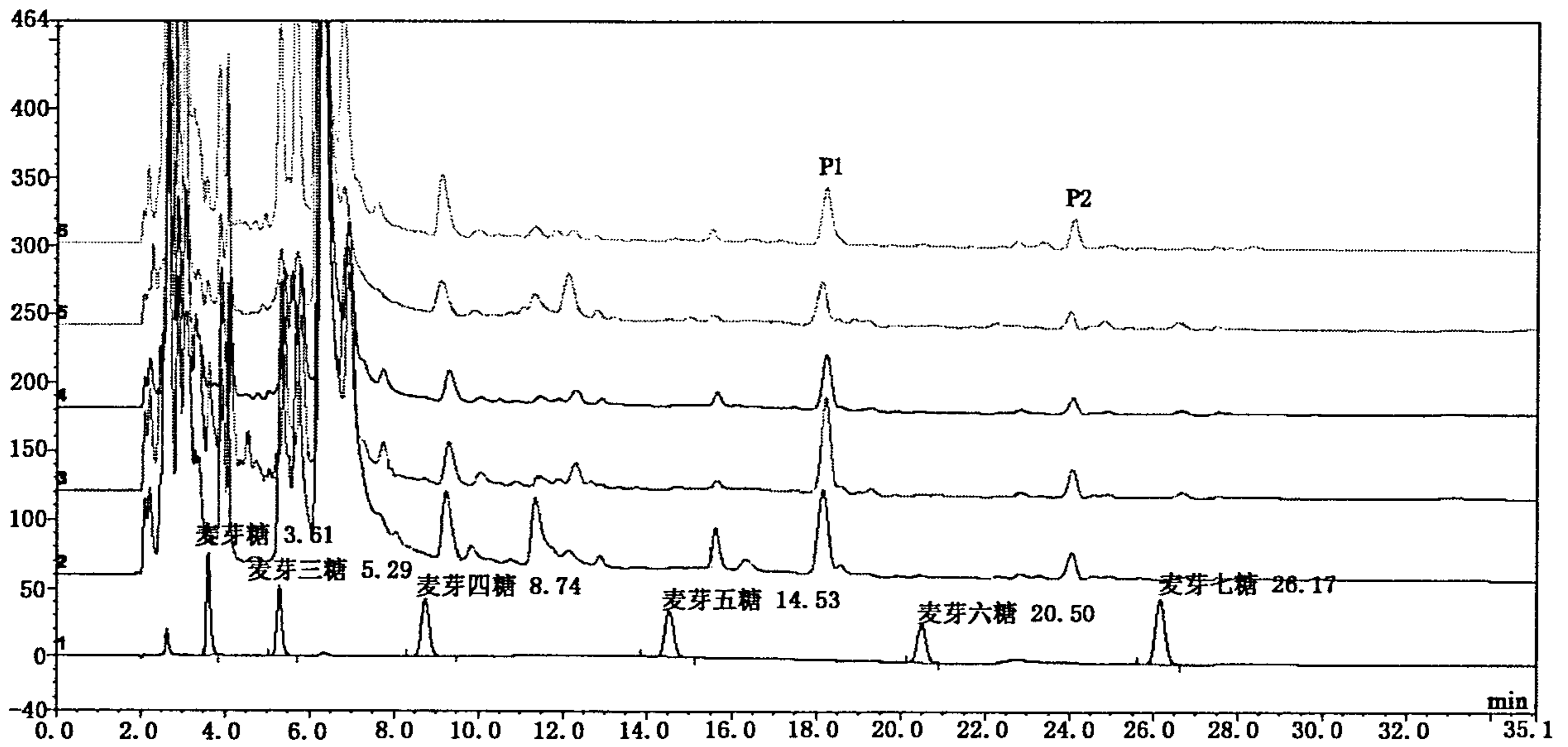


图 A.1 麦芽糖标准混合使用液定位谱图



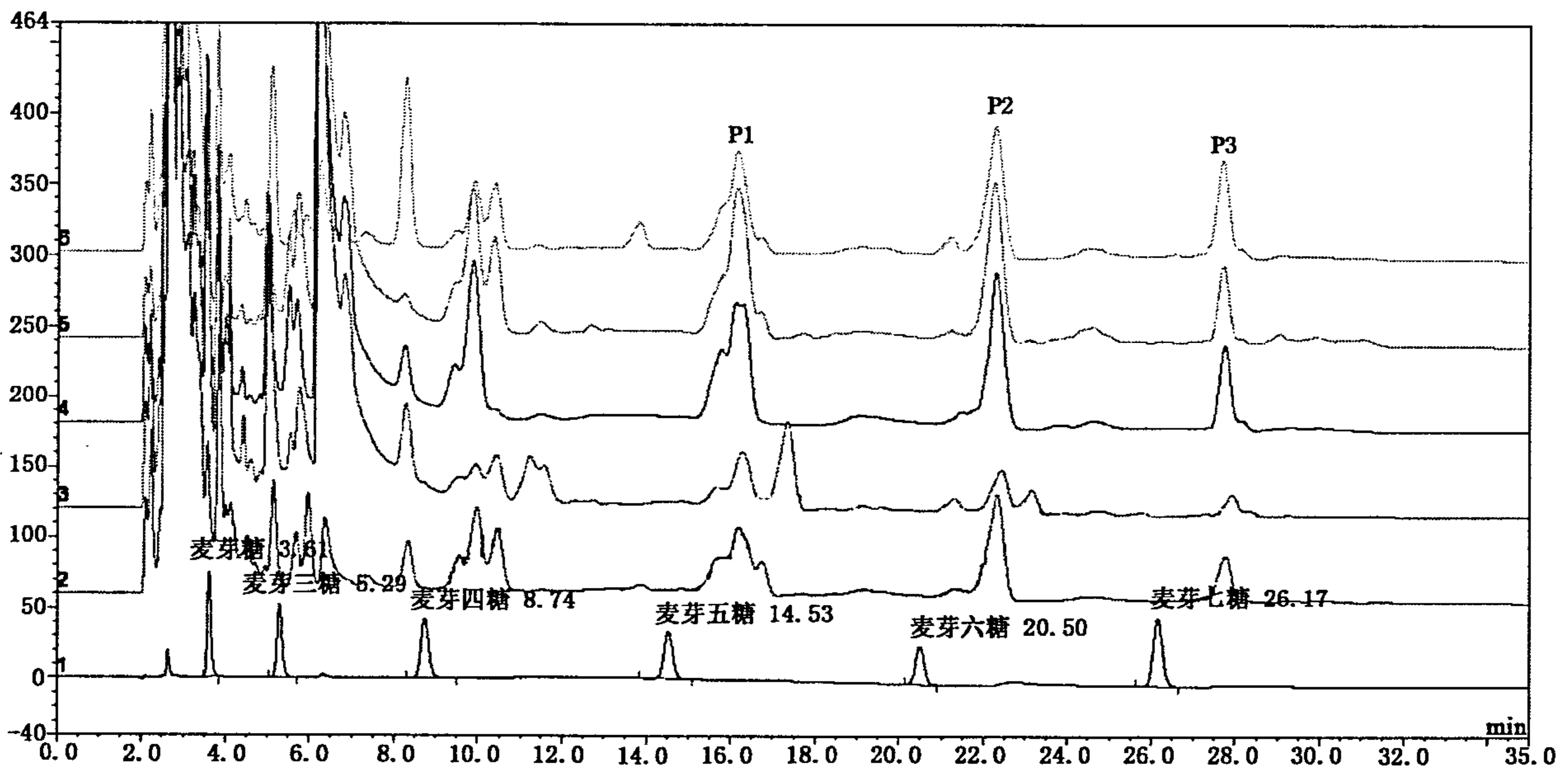
- | | |
|--------------|----------|
| 1——2-7 麦芽糖标; | 4——荆条纯蜜; |
| 2——槐花纯蜜; | 5——油菜纯蜜; |
| 3——枣花纯蜜; | 6——椴树纯蜜。 |

图 A.2 麦芽糖定位图与纯洋槐、枣花、椴树、荆条、油菜蜜的寡糖谱图



- | | |
|------------------|------------------|
| 1——2-7 麦芽糖标; | 4——油菜纯蜜+果葡 3#5%; |
| 2——椴树纯蜜+果葡 1#5%; | 5——洋槐纯蜜+果葡 4#5%; |
| 3——荆条纯蜜+果葡 2#5%; | 6——枣花纯蜜+果葡 5#5%。 |

图 A.3 麦芽糖定位图与含 5%果葡糖浆的洋槐、枣花、椴树、荆条、油菜蜜的寡糖谱图



- | | |
|--------------------|--------------------|
| 1——2-7 麦芽糖标; | 4——油菜纯蜜+麦芽糖浆 3#5%; |
| 2——椴树纯蜜+麦芽糖浆 1#5%; | 5——洋槐纯蜜+麦芽糖浆 4#5%; |
| 3——荆条纯蜜+麦芽糖浆 2#5%; | 6——枣花纯蜜+麦芽糖浆 5#5%。 |

图 A.4 麦芽糖定位图与含 5%麦芽糖浆的洋槐、枣花、椴树、荆条、油菜蜜的寡糖谱图