

# 蜂蜜中果糖、葡萄糖、蔗糖的测定能力验证 结果与分析

刘红\*, 李世兴, 李丽霞

(湖北省药品监督检验研究院, 武汉 430075)

**摘要:** **目的** 通过参加 FAPAS 2826 “蜂蜜中果糖、葡萄糖、蔗糖的测定”能力验证, 提高实验室对食品中果糖、葡萄糖、蔗糖的检测能力。**方法** FAPAS 2826 样品经水提取后, 采用高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)进行检测, 并通过多种质量控制措施对测定结果进行评价。**结果** FAPAS 2826 样品的果糖、葡萄糖和蔗糖测定结果分别为 38.7 g/100 g、31.8 g/100 g 和 1.24 g/100 g; Z 值分别为-0.3、1.1、0.4。**结论** 实验检测能力评价为满意, 表明本实验室蜂蜜中果糖、葡萄糖和蔗糖的定量测定能力较好。**关键词:** 能力验证; 果糖; 葡萄糖; 蔗糖; 高效液相色谱法; 蜂蜜

## Analysis of proficiency testing results of determination of fructose, glucose, sucrose in honey

LIU Hong\*, LI Shi-Xing, LI Li-Xia

(Hubei Institute for Drug Control, Wuhan 430075, China)

**ABSTRACT: Objective** To ensure and improve the laboratory's ability to determinate fructose, glucose, sucrose in food by participating in FAPAS 2826 “Determination of fructose, glucose, sucrose in honey” proficiency test. **Methods** The FAPAS 2826 sample was extracted by water, and determined by high performance liquid chromatography (HPLC). The results were evaluated by various quality control measures. **Results** The content of fructose, glucose, sucrose in FAPAS 2826 samples was 38.7 g/100 g, 31.8 g/100 g, 1.24 g/100 g, and the Z-score were -0.3, 1.1, 0.4, respectively. **Conclusion** The experimental testing ability is evaluated as satisfactory, which indicates that the determination level for fructose, glucose and sucrose in honey is good.

**KEY WORDS:** proficiency test; fructose; glucose; sucrose; high performance liquid chromatography; honey

## 1 引言

蜂蜜是蜜蜂采集植物的花蜜、分泌物或蜜露, 与自身分泌物混合后, 经充分酿造而成的天然甜物质<sup>[1]</sup>。天然蜂蜜中含有的化学物质主要为糖类, 约占蜂蜜质量的60%~80%, 其中葡萄糖和果糖含量较高(占总糖量的85%~95%), 蔗糖含量不超过5%<sup>[2]</sup>。中国是蜂蜜最大的生产国和出口国<sup>[3]</sup>, 但天然蜂蜜成本高, 部分黑心厂家在纯

蜂蜜中掺入糖类物质或以次充好欺骗消费者, 从而谋取暴利<sup>[4]</sup>。因此准确测定蜂蜜中糖的含量尤为重要。

能力验证是利用对相同或相似项目的实验室间比对来判定实验室和检测机构能力的唯一外部质量控制活动<sup>[5-7]</sup>。实验室通过参加能力验证与其他实验室间比对来评估内部检测能力<sup>[8-10]</sup>。其中, FAPAS<sup>®</sup>(food analysis performance assessment scheme)是由英国环境、食品和农村事务部的执行机构-中央科学实验室组织的能力测试计划<sup>[8]</sup>, 是目前国

\*通讯作者: 刘红, 主管药师, 硕士, 主要研究方向为食品化妆品检测。E-mail: 369908344@qq.com

\*Corresponding author: LIU Hong, Pharmacist, Master, Hubei Institute for Drug Control, Wuhan 430075, China. E-mail: 369908344@qq.com

际食品领域权威的能力验证提供者,也是全球食品领域最大、最全面的分析化学水平测试评估计划。按照国际水平测试导则实施比对,具有实物样品比对、覆盖范围广、不限定方法、检测水平要求高等特点<sup>[11]</sup>。为了检验并提高对 GB 5009.6-2016《食品安全国家标准 食品中果糖、葡萄糖、蔗糖、麦芽糖、乳糖的测定》<sup>[12]</sup>的定量测定能力,本实验室参加了 FAPAS 2826“蜂蜜中果糖、葡萄糖、蔗糖的测定”能力验证。结合 FAPAS 2826 能力验证报告,本研究对本次能力验证过程中关键环节:实验方案设计、定量测定结果分析和质量控制措施评价进行分析,讨论检测过程中分析及解决问题的思路与方法,总结经验,指导实验室检测工作的开展。

## 2 材料与方法

### 2.1 试剂与样品

乙酸锌( $\geq 99.0\%$ )、亚铁氰化钾( $\geq 99.5\%$ )(分析纯,国药集团化学试剂有限公司);果糖(99.5%)、葡萄糖(99.5%)、蔗糖(99.5%)(德国 Dr.Ehrenstorfer 公司);质控样品:蜂蜜(T2825QC,英国 The Food and Environment Research Agency);能力验证样品:蜂蜜(测试编号 2826)由 FAPAS 提供。实验用水由 Milli-Q 超纯水系统制得。

### 2.2 仪器

Waters 2695/2414 高效液相色谱仪串联示差检测器(美国 Waters 公司);XP204 电子天平(瑞士梅特勒仪器公司);Milli Q 超纯水系统(美国 Millipore 公司)。

### 2.3 实验方法

#### 2.3.1 样品前处理方法

称取试样约 0.5、1 和 5 g 于 50 mL 容量瓶中,加水稀释并定容,充分摇匀,经 0.45  $\mu\text{m}$  滤膜过滤后供液相色谱仪分析用。同法处理质控样。

#### 2.3.2 色谱条件

色谱柱:Kromasil 100-5NH<sub>2</sub> Dimensions (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5  $\mu\text{m}$ );流动相:乙腈:水=75:25(V:V),等度洗脱;柱温:40  $^{\circ}\text{C}$ ;流速:1.0 mL/min。示差检测器温度:35  $^{\circ}\text{C}$ ;进样量:10  $\mu\text{L}$ 。

#### 2.3.3 标准溶液的配制

精密称取果糖、葡萄糖适量置于同一 25 mL 容量瓶中,加水适量溶解并稀释至刻度,摇匀,即得果糖、葡萄糖浓度为 10 mg/mL 对照品储备液。精密称取蔗糖适量置于 25 mL 容量瓶中,加水适量溶解并稀释至刻度,摇匀,即得蔗糖浓度为 35 mg/mL 对照品储备液。根据预实验结果,配制成果糖、葡萄糖的浓度为 2、4、6、8、10 mg/mL 的系列标准溶液,蔗糖的浓度为 0.35、0.7、1.0、1.4、1.8 mg/mL 的系列标准溶液。

#### 2.3.4 质量控制措施

为确保检测数据的准确性,本次能力验证根据 2826

样品果糖、葡萄糖、蔗糖的含量水平,选择的仪器方法及实验室条件,对果糖、葡萄糖、蔗糖的测定采用以下质量控制措施:加标回收实验、质控样品实验、人员比对。

质量控制措施的具体内容如下:

#### (1) 加标回收实验

加标浓度一般为样品浓度的 0.5~2.0 倍<sup>[13]</sup>。综合考虑线性范围,本次实验以加标浓度为样品浓度的 0.5 倍进行加标回收实验,测定并计算加标回收率,分析测定结果的准确度。

#### (2) 质控样品实验

本次实验选用与能力验证试验相同基质的质控样品蜂蜜,测定果糖、葡萄糖、蔗糖的含量进行实验,检验样品在处理和测定过程中的准确度。

#### (3) 人员比对

选择了 5 年工作经验以上的人员 2 名(A 和 B),同时进行比对实验;通过人员比对实验,检验实验人员能力的可靠性。实验组别见表 1,以下的结果分析按照此分组分析。

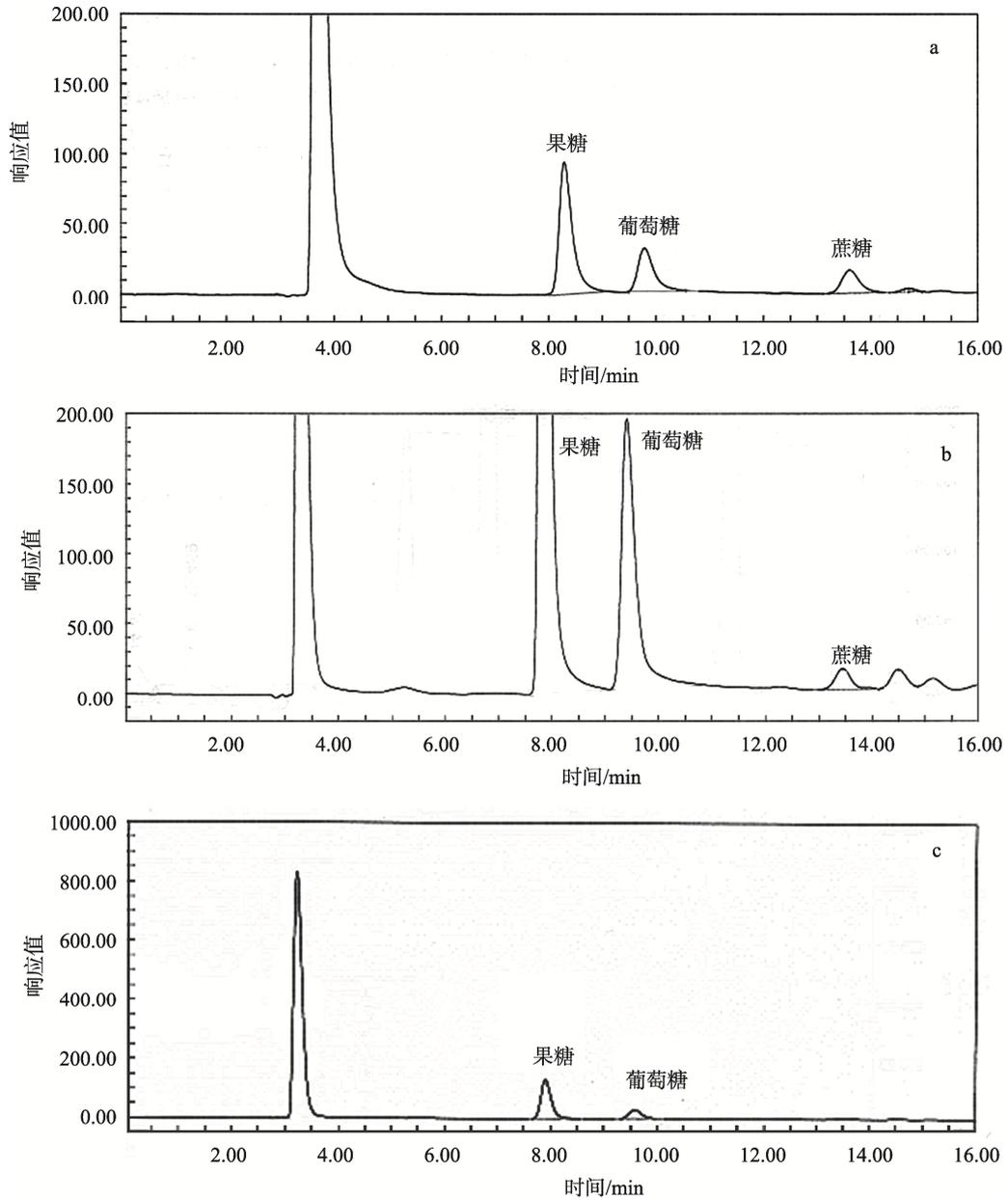
表 1 能力验证的实验组别  
Table 1 Experimental group of ability verification

实验组序号	实验员	测定方法
1	A	高效液相色谱法
2	B	高效液相色谱法

## 3 结果与分析

### 3.1 取样量和标准曲线范围的确定

标准曲线浓度范围和样品稀释倍数的确定原则是:应保证样液浓度落在标准曲线浓度范围的 1/3~2/3 区间<sup>[13]</sup>,此区间测量结果的准确度和精密度较高;再考虑加标浓度一般为样品浓度的 0.5~2.0 倍,加标样液的浓度应不超过标准曲线浓度范围的 9/10<sup>[11]</sup>。根据上述原则,为了使样品测定更加准确,分别称取 0.5、1 和 5 g 样品进行预试验,结果称样量为 0.5、1 和 5 g 时,果糖和葡萄糖含量范围均在 (25~45) g/100 g 之间,蔗糖的含量范围在 (0.8~1.5) g/100 g 之间,当取样量为 0.5 和 1 g 时,测定蔗糖的浓度较低,靠近定量限,结果不准确,但果糖、葡萄糖峰形较好;而当取样量为 5 g 时,蔗糖峰形较好,果糖和葡萄糖的峰形有明显拖尾现象,影响含量计算的准确性(见图 1),分析拖尾的原因可能为样品量过载。故选择取样量为 0.5 g 或 1 g 时测定果糖和葡萄糖,取样量为 5 g 时测定蔗糖。再根据标准曲线浓度范围确定原则和预试验中测定样品的浓度,结合加标回收考虑,确定果糖、葡萄糖、蔗糖标准曲线范围(见表 2)。



注: a. 质控样品色谱图; b. 取样量为 0.5 g 样品图; c. 取样量为 0.1 g 样品图。

图 1 质控样品及样品色谱图

Fig.1 The chromatogram of quality control sample and unknown sample

表 2 线性回归方程的相关系数

Table 2 The linear equations and correlation coefficients

试验组别	成分	线性方程	相关系数( $r^2$ )	线性范围/(mg/L)
1	果糖	$Y=232.4480X-14990.0500$	0.9999	2737.36~13686.82
	葡萄糖	$Y=84.0671X-17110.4500$	0.9998	2006.88~10034.38
	蔗糖	$Y=252.7228X-11192.1600$	0.9998	362.18~1810.90
2	果糖	$Y=245.7398X-38048.5000$	0.9997	1875.38~9376.88
	葡萄糖	$Y=117.8152X-37903.0000$	0.9994	1934.44~9672.20
	蔗糖	$Y=250.6740X-22369.3000$	0.9992	793.61~3968.05

### 3.2 能力验证样品测定

称取 2 份 2826 样品按 2.3.2 进行前处理和上机测定, 测定结果见表 3。结果精密度均小于 < 3%, 符合 GB 5009.6-2016 中对精密度的要求(规定在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算数平均值 10%)<sup>[12]</sup>。

表 3 样品测定结果  
Table 3 Results of sample

实验组 序号	成分	平行试验 (g/100 g)		平均值 (g/100 g)	精密度 /%
		1	2		
		1	果糖		
	葡萄糖	31.41	31.98	31.69	-0.18
	蔗糖	1.29	1.27	1.28	-1.80
2	果糖	38.76	38.83	38.79	1.63
	葡萄糖	32.11	31.59	31.85	1.56
	蔗糖	1.23	1.26	1.24	-2.56

### 3.3 加标回收实验

考虑到能力验证样品量有限, 平行精密称取 3 份 2826 样品约 0.5 g, 按 0.5 倍加入果糖、葡萄糖对照品, 另按 0.5 倍平行精密称取 3 份 2826 样品约 2.5 g, 按 0.5 倍加入蔗糖的对照品, 混匀后, 均按 2.3.1 进行前处理和上机测定, 结果见表 4。3 种目标化合物的加标回收率在 99.9%~102.1% 内, 满足 GB/T 27404-2008 中含量大于 100 mg/kg 样品回收率的要求(回收率应在 95%~105%之间)<sup>[14]</sup>。

表 4 加标回收实验结果(n=3)  
Table 4 Results of recoveries (n=3)

成分	加标量 /mg	回收量 /mg	回收率 /%	平均 回收率/%	相对标准 偏差/%
果糖	98.83	98.49	99.65	99.88	0.21
	77.34	77.29	99.94		
	77.31	77.36	100.06		
葡萄糖	60.91	60.50	99.33	99.85	0.84
	67.88	68.44	100.82		
	65.72	65.32	99.39		
蔗糖	9.68	10.21	105.45	102.15	2.82
	11.68	11.78	100.83		
	12.62	12.64	100.16		

### 3.4 质控样品实验

精密称取质控样品 T2825QC, 按 2.3.1 进行前处理和

上机测定, 质控样品的实验结果见表 5。结果表明, 采用高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)测定质控样品, 其果糖、葡萄糖、蔗糖含量的测定结果基本一致, 相对标准偏差为 0.41%~12.37%, 均在参考值范围内, 说明实验选择的前处理方法是合适的, 采用 HPLC 法对果糖、葡萄糖、蔗糖含量进行测定, 其结果是准确的。

表 5 质控样品实验结果(n=2)  
Table 5 The results of reference material (n=2)

实验组 序号	成分	质控样品 测定值/(g/100 g)	质控样品 参考值/(g/100 g)	相对标准 偏差/%
1	果糖	31.37	31.5±1.2	0.41
	葡萄糖	24.75	25.1±1.0	1.39
	蔗糖	7.79	8.89±2.05	12.37
2	果糖	31.9	31.5±1.2	-1.27
	葡萄糖	25.24	25.1±1.0	-0.56
	蔗糖	7.837	8.89±2.05	11.84

### 3.5 人员比对

2826 样品中果糖、葡萄糖、蔗糖的人员比对结果平均值的相对偏差在 0.41%~1.27%之间, 质控样品测定值相对偏差为 0.60%~1.96%, 可见人员比对结果差异 < 10%, 表明测定结果受实验人员差异的影响较小。

### 3.6 样品果糖、葡萄糖和蔗糖的确定与评价

本次能力验证设计的 2 组实验标准曲线均较好, 2 组质控样品测定值均接近参考值, 加标回收率也能达到 GB/T 27404-2008 的要求。所以本次能力验证实验以 2 组实验的平均值作为 2826 样品果糖、葡萄糖、蔗糖含量结果值(见表 6)。本次 FAPAS 能力验证 2826 共有 91 家实验室参加, 其中参与果糖结果统计的实验室有 82 个, 参与葡萄糖结果统计的实验室有 76 个, 参与蔗糖结果统计的实验室有 66 个, 本实验室果糖、葡萄糖、蔗糖的 Z 值结果为-0.3、1.1、0.4(见表 6), 结果满意<sup>[15]</sup>。

## 4 结论

本次 FAPAS 能力验证中, 对 2826 样品的果糖、葡萄糖和蔗糖含量测定结果为 38.7 g/100 g, 31.8 g/100 g 和 1.24 g/100 g; Z 值分别为-0.3、1.1、0.4, 结果满意。通过本次 FAPAS 能力验证, 对实验室中使用的国标方法从加标回收实验、质控样品实验、人员比对 3 个方面对实验进行了有效的质量控制, 评价结果一致, 且测定结果满足准确度和精密度要求, 有效性得到了确认, 实验室检测人员积累了经验, 对实验室的检验检测工作有一定的指导作用。

表6 参加测试机构结果表  
Table 6 Results for this proficiency test

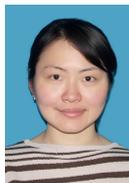
成分	本实验室测定值/ (g/100 g)	指定值 Xa/ (g/100 g)	本实验室 Z 值	Z ≤2 机构数	参加能力验证的机构数	Z ≤2 机构比例 /%
果糖	38.7	38.9	-0.3	56	68	82
葡萄糖	31.8	31.1	1.1	52	68	76
蔗糖	1.24	1.3	0.4	46	70	66

## 参考文献

- [1] GB 14963-2011 食品安全国家标准 蜂蜜[S].  
GB 14963-2011 National food safety standard-Honey [S].
- [2] 2001/110/EC Relating to honey [S].
- [3] 徐国钧, 郭智勇, 温佳豪, 等. 中国蜂蜜在国际市场的定价话语权-基于国际市场势力的实证分析[J]. 世界农业, 2019, (3): 77-83, 103, 116.  
Xu GJ, Guo ZY, Wen JH, *et al.* The pricing power of Chinese honey in the international market-an empirical analysis based on international market forces [J]. World Agric, 2019, (3): 77-83, 103, 116.
- [4] 张萌, 张路瑶, 陈瑞盈, 等. 基于糖类物质差异鉴别掺假蜂蜜技术研究进展[J]. 食品研究与开发, 2018, 39(19): 201-207.  
Zhang M, Zhang LY, Chen RY, *et al.* Research progress in the identification of honey adulteration based on the difference of carbohydrate [J]. Food Res Dev, 2018, 39(19): 201-207.
- [5] Guntinas MBDLC, Wysocka I, Quetel C, *et al.* Proficiency test for heavy metals in feed and food in Europe [J]. TrAC-Trends Anal Chem, 2009, 28(4): 454-465.
- [6] Raposo F, Borja R, Cacho JA, *et al.* First international comparative study of volatile fatty acids in aqueous samples by chromatographic techniques: Evaluating sources of error [J]. TrAC-Trends Anal Chem, 2013, (51): 127-143.
- [7] Li Y, Zhang R, Han Y, *et al.* Proficiency testing for the detection of anti-citrullinated protein antibody in China [J]. Clin Chim Acta, 2015, (450): 67-71.
- [8] Goren AC, Bilsel G, Simsek A, *et al.* HPLC and LC-MS/MS methods for determination of sodium benzoate and potassium sorbate in food and beverages: Performances of local accredited laboratories via proficiency tests in Turkey [J]. Food Chem, 2015, (175): 273-279.
- [9] Narukawa T, Inagaki K, Naito S, *et al.* Assessment of technical problems in the analysis of inorganic elements in squid through proficiency testing [J]. TrAC-Trends Anal Chem, 2016, (76): 216-226.
- [10] Earnshaw A, Smith RA, Owen L. How proficiency testing can improve the quality of analytical data using vitamin analysis as an example [J]. Food Chem, 2009, 113(3): 781-783.
- [11] 吴维群, 汪国权, 卢大胜, 等. FAPAS实验室能力比对的质量控制水平分析[J]. 环境与职业医学, 2008, 25(4): 371-374.  
Wu WQ, Wang GQ, Lu DS, *et al.* The quality control level analysis of FAPAS examining lab's performance assessments [J]. J Environ Occup Med, 2008, 25(4): 371-374.
- [12] GB 5009.6-2016 食品安全国家标准 食品中果糖、葡萄糖、蔗糖、麦芽糖、乳糖的测定[S].  
GB 5009.6-2016 National food safety standard-Determination of fructose, glucose, sucrose, maltose, lactose in food [S].
- [13] 庞玉龙, 聂灿军, 黄家明. 饲料中重金属元素检测方法验证[J]. 广东饲料, 2015, 24(1): 37-41.  
Pang YL, Nie CJ, Huang JM. Verification for determination of heavy metal elements in feeds [J]. Guangdong Feed, 2015, 24(1): 37-41.
- [14] GB/T 27404-2008 实验室质量控制规范 食品理化检测[S].  
GB/T 27404-2008 Criterion on quality control of laboratories-Chemical testing of food [S].
- [15] Abigail B. FAPAS-food chemistry proficiency test report 2826 [R]. York: Fera Science Ltd (Fera).

(责任编辑: 苏笑芳)

## 作者简介



刘红, 主管药师, 硕士, 主要研究方向为食品化妆品检测。  
E-mail: 369908344@qq.com.