

固液分散萃取-高效液相色谱法测定蜂蜜中甘油残留量

周萍¹, 李珊珊², 李樱红³, 胡福良^{2*}

(1. 杭州碧于天保健品有限公司, 桐庐 311500; 2. 浙江大学动物科学学院, 杭州 310058;
3. 浙江省食品药品检验研究院, 杭州 310052)

摘要: **目的** 建立固液分散萃取-高效液相色谱法测定蜂蜜中甘油残留量的方法。**方法** 样品经乙醇溶解, 用微粉硅胶吸附, 使蜂蜜均匀分散成细微颗粒。水浴蒸干水分和乙醇, 以乙腈为溶剂超声萃取, 样液用带示差折光检测器的高效液相色谱仪测定。采用 Shodex Asahipak NH₂P-50 4E 色谱柱分离, 以赤藓糖醇为内标, 以阴性样品为基质绘制标准曲线进行内标法定量, 流速为 1.0 mL/min, 流动相为乙腈水溶液。**结果** 此方法能在 6.5 min 内快速分离甘油, 甘油在 50~1000 mg/kg 范围内线性良好, 相关系数 $r^2=0.9996$ 。甘油回收率为 94.8%~102.9%, 相对标准偏差为 2.9%~5.3%。**结论** 该方法具有简单、快速、灵敏度高等特点, 可用于蜂蜜中甘油的检测。

关键词: 蜂蜜; 甘油; 高效液相色谱法; 快速检测; 质量控制

Determination of glycerin residue in honey by high performance liquid chromatography with dispersive solid-liquid-phase extraction method

ZHOU Ping¹, LI Shan-Shan², LI Ying-Hong³, HU Fu-Liang^{2*}

(1. Hangzhou BiYuTian Health Products Co., Ltd., Tonglu 311500, China; 2. College of Animal Science, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China; 3. Zhejiang Institute for Food and Drug Control, Hangzhou 310052, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for the determination of glycerin residue in honey by high performance liquid chromatography with dispersive solid-liquid-phase extraction method. **Methods** The sample was dissolved by ethanol and absorbed by micro silica gel to disperse honey into fine particles. The water and ethanol was evaporated using water bath. The glycerin in honey was extracted by ultrasonic using acetonitrile as solvent. Then the honey samples are analyzed by the HPLC column Shodex Asahipak NH₂P-50 4E with the total flow rate 1.0 mL/min. Internal standard method was used to quantify the standard curve with erythritol as the internal standard and negative sample as the matrix. The mobile phase was acetonitrile aqueous solution. **Results** The glycerin could be effectively separated in 6.5 min. The linearity of glycerol ranged from 50 to 1000 mg/kg and the correlation coefficient was 0.9996. The recovery rate ranged from 94.8% to 102.9% and the relative standard deviation was 2.9% to 5.3%. **Conclusion** This method is simple, rapid, sensitive to provide a new insight for the daily determination of

基金项目: 国家蜂产业技术体系专项(CARS-44)、浙江省市场监管局科研项目<蜂蜜关键品质指标检测技术研究与应用>

Fund: Supported by the Modern Agroindustry Technology Research System (CARS-44), and the Zhejiang Provincial Market Supervision Bureau <Research and Application of Key Quality Index Detection in Honey>

***通讯作者:** 胡福良, 博士, 教授, 主要研究方向为蜜蜂、蜂产品及功能性食品科学。E-mail: flhu@zju.edu.cn

***Corresponding author:** HU Fu-Liang, Ph.D, Professor, College of Animal Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China. E-mail: flhu@zju.edu.cn

glycerin in honey.

KEY WORDS: honey; glycerin; high performance liquid chromatography; rapid determination; quality control

1 引言

蜂蜜是蜜蜂采集植物的花蜜、混以自身分泌物经充分酿造而成的天然甜物质^[1]。蜂蜜主要成分为果糖、葡萄糖、水分,还含有相对少量的蛋白质、氨基酸、脂肪酸、酚类化合物、维生素、矿物质等营养物质^[2]。国内外研究均表明,蜂蜜具有抗氧化、抗菌、抗炎、缓解心血管疾病和抗肿瘤等活性及药理功能^[3,4]。由于蜂蜜的天然属性,安全性高,一直是百姓喜爱的流行食品,进而使得消费者对蜂蜜的需求量和质量要求越来越高。

由于追求产量和不规范的标准等因素,我国现在蜂蜜的采收以非成熟蜜为主^[5]。非成熟蜜的特点是水分含量较高,约 30%~40%,这种蜂蜜极易发酵,影响蜂蜜品质^[6]。发酵的蜂蜜除了会产生乙醇和二氧化碳外,还会产生少量的甘油、丙二醇,甘油在蜂蜜加工时难以去除,故国内外对蜂蜜中的甘油进行限量,以保证蜂蜜的品质^[6]。欧盟要求蜂蜜中甘油残留量不超过 300 mg/kg。我国由中国蜂产品协会起草的蜂蜜团体标准中,对特级蜂蜜中的甘油限量进行了规定,要求不超过 300 mg/kg。因此,建立一种快速有效的蜂蜜中甘油含量检测方法,对于蜂蜜的质量控制尤为重要。

目前,蜂蜜中甘油的主要检测方法有:分光光度法^[7]、气质联用法^[8];食品、药品等其他产品中甘油的测定方法还有:氧化还原滴定法^[9]、比色法^[10]、红外光谱法^[11]、液相色谱及其串联质谱法^[12]等。在我国测定蜂蜜中甘油含量的国家标准为 GB/T 18932.6-2002,行业标准为 GH/T 1106-2015,其中,GB/T 18932.6-2002 为分光光度法,需要配制大量的试剂,连续测定空白溶液、蜂蜜试样测定液和标准溶液的吸光度各 10 次,以得到相对稳定的吸光度值,操作步骤较多,对检测人员、环境的要求较高。GH/T 1106 则为气质联用法,以丁三醇为内标,准确性比试剂盒好,虽不需要净化处理,但操作需要衍生化,颜色深的蜂蜜会产生干扰,衍生化处理后的样液会严重污染衬管,需要经常更换,仪器昂贵、检测成本较高、大多数企业没有条件应用,企业往往采取送外部专门的检测机构检验的方式,延长了检测周期,不利于及时控制品质,提高了企业的质量成本,不利于产品竞争。而固液分散萃取-示差折光高效液相色谱法利用固液分散萃取的净化处理方法,能够快速准确地检测甘油含量。固液分散萃取的净化处理方法是利用萃取剂提取固体中的可溶组分(溶质),具有增加蜂蜜的接触面积提高萃取效率的特点^[13],可以使企业在产品竞争中更具优势。

本研究使用乙腈和微粉硅胶联合的方法净化样品,

以赤藓糖醇为内标,采用液相色谱法测定蜂蜜中的甘油残留量,具有前处理简单、结果稳定且准确可靠、方法灵敏度好、检测成本低等特点。本方法可在蜂蜜企业中快速得到应用,大大降低检测成本、提高检测效率、满足蜂蜜相关企业在日常工作中对蜂蜜中甘油残留量进行测定的需求,满足低成本控制蜂蜜品质的需要,提升产品竞争力。

2 材料与方法

2.1 仪器与试剂

Shimadzu LC-10A 型高效液相色谱仪(包括在线脱气机、二元泵、手动进样器、柱温箱、示差折光检测器)(日本岛津); Sartorius BS224S 分析天平(德国赛多利斯集团);甘油(纯度大于 99%,中国药品生物制品检定所);微粉硅胶(医药级,纯度大于 99%,湖州展望药业股份有限公司);赤藓糖醇内标(纯度大于 99%,上海麦克林生化科技有限公司);95%乙醇(分析纯,杭州双林化工试剂有限公司);乙腈(色谱级,德国默克公司);针式滤膜(尼龙 66, 0.22 μm ,湖南比克曼生物科技有限公司);蒸馏水(相当于 GB/T 6682 二级水,广州屈臣氏食品饮料有限公司),以下使用均为此蒸馏水。

蜂蜜样品由安徽蜜之源食品集团有限公司、杭州天厨蜜源保健品有限公司、北京百花蜂业科技发展股份有限公司提供。

2.2 标准溶液配制

赤藓糖醇使用液:称取 1 g 赤藓糖醇于 10 mL 容量瓶中,用 40%乙腈稀释、摇匀,浓度:100 mg/mL。密封 4 $^{\circ}\text{C}$ 下保存期 24 个月。

甘油贮备标准溶液:称取 2 g 甘油于 10 mL 容量瓶中,用双重蒸馏水稀释、摇匀,浓度为 200 mg/mL。密封 4 $^{\circ}\text{C}$ 下保存期 24 个月。

甘油工作标准溶液:取适量甘油贮备标准溶液,用水稀释、摇匀,浓度分别为 20、2 mg/mL。密封 4 $^{\circ}\text{C}$ 下保存期 12 个月。

2.3 样品处理

称取蜂蜜样品 5.0 g 于 90 mm 蒸发皿中,加入赤藓糖醇使用液 200 μL ,加入水 1 mL,乙醇 5 mL,搅拌均匀至完全溶解,加入 2.5 g 微粉硅胶,搅拌分散成较细颗粒,于 100 $^{\circ}\text{C}$ 下沸水浴蒸干,转入 50 mL 离心瓶中,加入乙腈 20 mL,充分混合,超声 15 min,4000 r/min 离心 5 min,吸取上清液于 50 mL 尖底茄形瓶中,残渣中再加入乙腈 20 mL 重复提取 1 次,合并上清液,60 $^{\circ}\text{C}$ 旋转蒸发至干,加 1 mL 流动相,超声溶解,经 0.22 μm 滤膜过滤。

2.4 高效液相色谱条件

色谱柱: Shodex Asahipak NH2P-50 4E(4.6 mm×250 mm, 5 μm)或等效色谱柱。流动相: 86%乙腈+14%水(V/V)。流速: 1.0 mL/min。柱温: 35 °C。检测室温度: 35 °C。进样量: 40 μL。

2.5 数据统计

采用 Microsoft Excel 2010 对数据进行处理。

3 结果与分析

3.1 样品净化条件优化

3.1.1 净化富集方式选择

据液相色谱检测产品中甘油的相关文献报道, 样品前处理方法主要有: 用稀硫酸调 pH 为 4~6, 水油分离, 树脂净化^[14]; 直接用水稀释^[15,16]; 用 72%乙醇提取^[17]; 直接过滤进样^[18]等, 这些方法的共同点是: 除了油性、干性产品外, 水性产品均无法对样品进行净化达到富集甘油和提高检测灵敏度的目的。究其原因是在甘油与水、无机盐类、糖类、醇类、酸类、酯类等多数物质可以任意比例混溶, 很难找到一种有效净化富集的样品处理方法。而蜂蜜中主要成分是与水, 含量占蜂蜜的 90%以上^[2], 甘油可以很好地溶解在两者中。乙腈与糖类化合物的溶解度随糖类化合物中水分含量的减低而减少。然而将蜂蜜用水稀释后, 用乙腈提取时, 由于蜂蜜糖分高, 较粘稠, 加之糖、水和无机盐的影响, 使得乙腈通过液液萃取方式提取蜂蜜中的甘油较难实现。

考虑到固液分散萃取是利用萃取剂提取固体中的可溶组分(溶质), 因而溶质在固体中的分布情况直接影响到固液萃取的速率^[13]。本研究将蜂蜜分散在吸附剂中使其成细粉, 以增加乙腈与样品中甘油的接触面积, 提高萃取效率。将细粉在水浴上去除水分, 可以消除水对甘油溶解的因素, 减少糖类化合物在乙腈中的溶出, 达到甘油富集效果。同时使用乙醇预先溶解蜂蜜, 可以促进蜂蜜更充分地分散在吸附剂中, 从而保证甘油有效地溶出到乙腈中, 达到富集净化目的。

3.1.2 吸附剂的选择

微粉硅胶是一种极细微粉末, 粒径小于 45 μm, 可作

为药用辅料, 具有一定的吸附性能, 在药品制备中起到抗结块作用, 可与 4 倍重量的液体混合仍成粉末状^[19]。硅藻土是一种常见的惰性粉末, 在实验室和生产中作为助滤剂使用^[20]。层析用硅胶(200~300 目), 主要用于实验室的层析分离操作, 有较强的吸附能力, 主要吸附强极性化合物^[21]。聚酰胺粉, 主要用于实验室的层析分离操作, 有较强的吸附能力, 主要吸附中等极性化合物^[22]。以上 4 种吸附剂流动性和分散性较好, 因此本研究选取其作为甘油提取的潜在吸附剂, 试图筛选出可有效提取甘油的吸附剂。

将 2 g 蜂蜜加入 10 mg/mL 甘油标准液 200 μL, 加 1 mL 水和 5 mL 乙醇, 溶解完全, 加入吸附剂, 搅拌, 沸水浴蒸干, 用 20 mL 乙腈提取, 4000 r/min 离心分离 5 min, 吸出上清液, 60 °C 下旋转蒸发至干, 流动相溶解, 过 0.22 μm 滤膜, 进样 40 μL 进行分析。

从表 1 中可知, 在 4 种吸附剂中, 以甘油峰面积为筛选依据, 提取效果从多到少依次为微粉硅胶>层析用硅胶>聚酰胺粉>硅藻土, 其中, 微粉硅胶的提取效果最好。因此, 本研究选择微粉硅胶作为吸附剂, 并推测提取效果可能与此吸附剂的细度有关。

3.1.3 称样量的选择

为研究样品称样量是否可以影响甘油的提取效果, 分别称取 2、5、10 g 阴性蜂蜜, 加入 10 mg/mL 甘油标准液 200 μL, 加 1.2 mL 水和 5 mL 乙醇, 溶解完全, 加入 3.5 g 微粉硅胶, 搅拌, 沸水浴蒸干, 用 40 mL 乙腈提取, 4000 r/min 离心分离 5 min, 吸出上清液, 60 °C 下旋转蒸发至干, 流动相溶解, 过 0.22 μm 滤膜, 进样 40 μL 进行分析。考察甘油峰面积与称样量的关系, 见表 2。

从表 2 中可知, 称样量与检测灵敏度呈正相关。考虑到称样量的增加需要更多微粉硅胶和乙腈, 蒸发干燥时间也会延长。称样量 5 g 时, 灵敏度已经能够满足实际需求, 故选择称样量为 5 g。

3.1.4 萃取溶剂的选择

为研究萃取溶剂对蜂蜜中甘油提取效果的影响, 分析了常见萃取溶剂乙腈、甲醇、乙醇等溶剂的提取效果。不同溶剂的蜂蜜提取液蒸干后的残余物如图 1 所示, 发现乙腈富集效果最好, 可以去除 99%以上蜂蜜糖分, 而甲醇、乙醇仍留有 30%以上蜂蜜糖分, 故选择乙腈作为甘油的提取溶剂。

表 1 不同吸附剂提取蜂蜜中甘油情况比较
Table 1 Comparison of glycerin extracted from honey by different absorbent

吸附剂名称	吸收分散情况	蒸干后状态	蒸干后体积	甘油峰面积
微粉硅胶	加入 2.5 g, 成粉末状	粉末	约 10 mL	80450
硅藻土	加入 4 g, 仍为液体状	粉末	约 8 mL	39107
层析用硅胶	加入 4 g, 仍为液体状	粉末	约 8 mL	64890
聚酰胺粉	加入 4 g, 仍为液体状	粉末	约 8 mL	45022

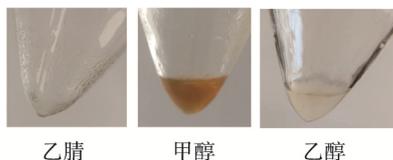


图 1 不同溶剂对蜂蜜提取液的影响

Fig.1 Effect of different solvents on honey extracts

通过本研究的方法提取净化,将乙腈蒸干后,瓶壁上只留下薄薄的一层痕迹(图 2)。加入流动相溶解后,样液呈无色至淡黄色、澄清、透明状态。结果表明,蜂蜜样品称样量为 5 g,以微粉硅胶作为吸附剂、乙腈作为萃取溶剂的固液分散萃取方法,可使样品得到有效净化。

3.2 液相条件选择

甘油可经 NH_2 色谱柱分离并用示差或者蒸发光散射检测器检测已经有较多的文献报道^[13-17]。选择 Shodex Asahipak $\text{NH}_2\text{P}-50\ 4\text{E}$ 、Kromasil 100-5- NH_2 色谱柱以乙腈水溶液作为流动相,对蜂蜜中甘油的液相色谱分析条件进行研究。分别采用 70%、80%和 90%乙腈对甘油进行分离,发现 90%乙腈时,甘油出峰时间在 7.6 min,与溶剂峰完全分离,可以用于定量分析(图 3)。继续微调至 86%乙腈时,糖峰在 15 min 出峰,而甘油则在 6.5 min 出峰,甘油分离度

良好,分析时间适中(图 4)。故采用 86%乙腈作为分析的流动相。



注: 1. 洋槐蜜; 2. 紫云英; 3. 茴香蜜; 4. 椴树蜜; 5. 油菜蜜; 6. 苹果蜜; 7. 枸杞蜜; 8. 枇杷蜜; 9. 杂花蜜; 10. 荆条蜜。

图 2 蜂蜜提取净化样液

Fig.2 The extraction and purification solution of honey

3.3 内标物质的选择

为解决操作过程的损失、提取率差异对检测结果的影响,提高方法正确度,采用沸点较高的糖醇,选择山梨糖醇、木糖醇、赤藓糖醇作为潜在的内标物质。结果发现,赤藓糖醇出峰时间与甘油接近,只相差了约 2.8 min,且峰形最佳,无干扰(图 5),而山梨糖醇、木糖醇出峰时间与甘油相差较大,山梨糖醇达到了 10 min 以上,且峰形对称性不如赤藓糖醇,不适合作为内标使用。

表 2 称样量对蜂蜜中甘油提取的影响
Table 2 Effect of sample weighing on the extracted glycerin from honey

称样量/g	添加甘油量/mg	A 甘油峰面积	B 样品甘油浓度/(mg/g)	A/B
2	2	102179	1	102179
5	2	50180	0.4	125450
10	2	36669	0.2	183345

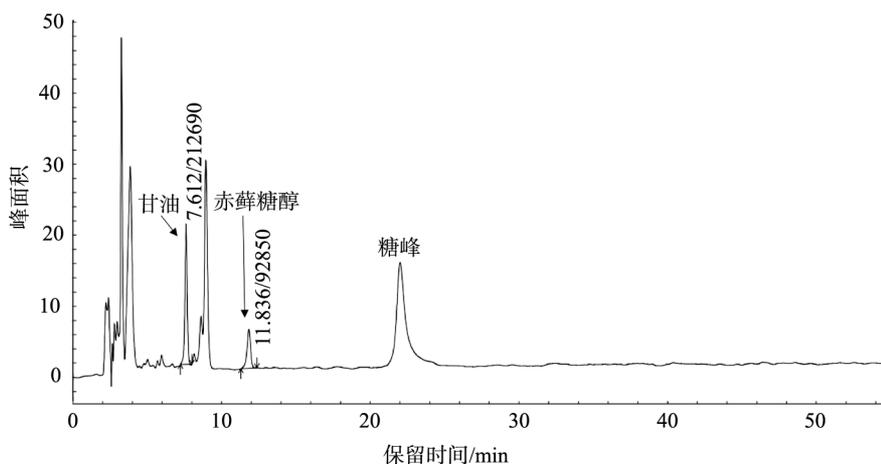


图 3 90%乙腈水溶液为流动相的蜂蜜样品色谱图

Fig.3 Chromatogram of honey with the mobile phase of 90% acetonitrile aqueous solution

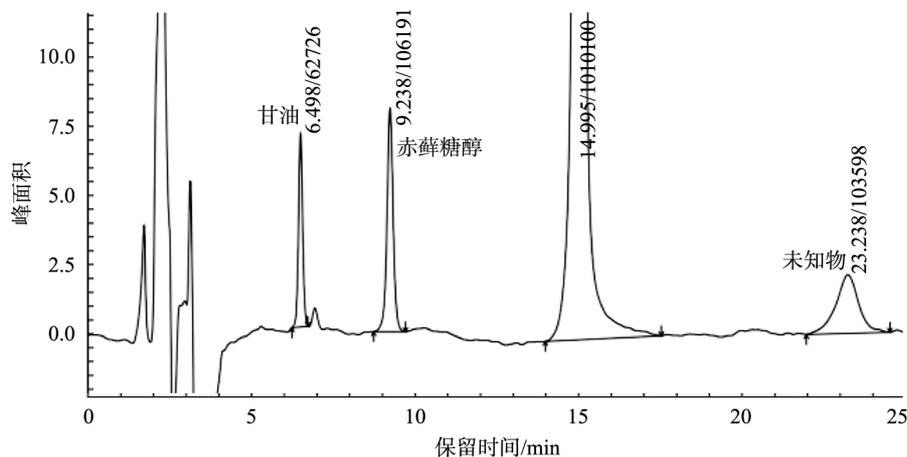


图 4 以 86%乙腈水溶液为流动相蜂蜜样品的色谱图

Fig.4 Chromatogram of honey with the mobile phase of 86% acetonitrile aqueous solution

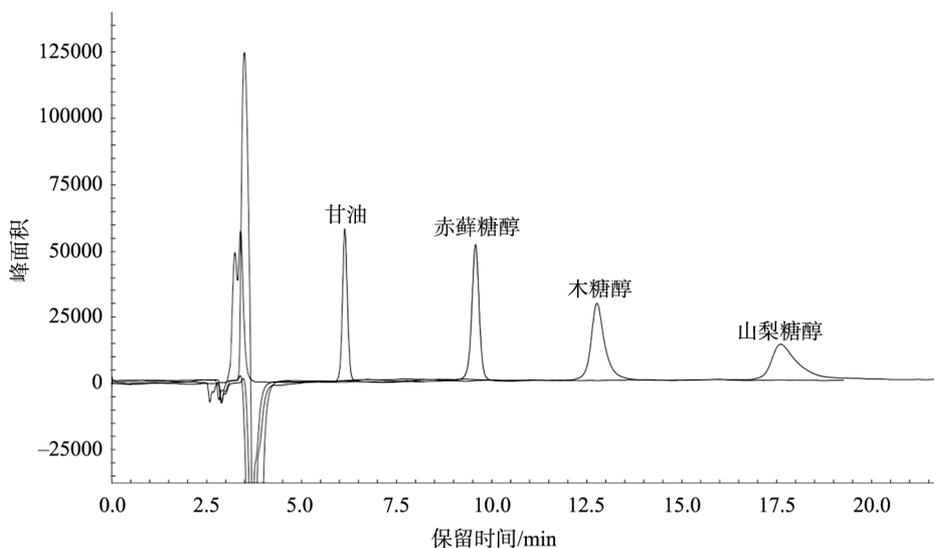


图 5 甘油、赤藓糖醇、木糖醇、山梨糖醇标准溶液的色谱图

Fig.5 Chromatograms of standard solutions of glycerol, erythritol, xylitol and sorbitol

因此选择赤藓糖醇作为本研究的内标。按 2.3 方法进行标准曲线测定。分别用外标法和内标法绘制标准曲线, 如图 6 和图 7 结果所示, 外标法的相关系数 $r^2=0.9969$, 而用内标法的相关系数 $r^2=0.9996$, 采用内标法定量线性更好。因此, 本研究选用以赤藓糖醇为内标物质的内标法。

3.4 方法稳定性研究

精密称取含甘油的蜂蜜样品 5 g, 按 2.3 要求对样品进

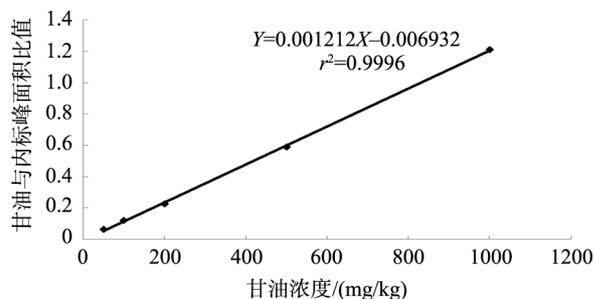


图 6 内标法定量标准曲线

Fig.6 Quantitative standard curve of internal standard method

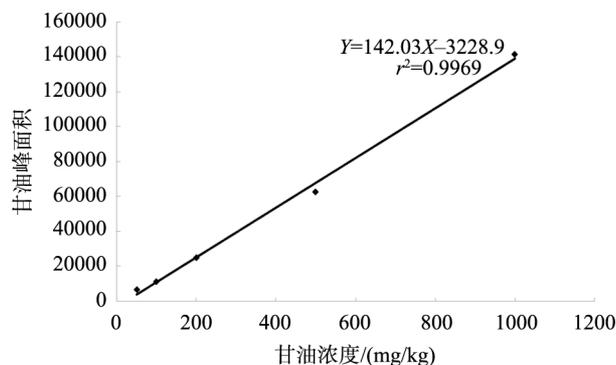


图 7 外标法定量标准曲线

Fig.7 Quantitative standard curve of external standard method

行操作处理,在室温下,设置仪器样品批处理文件,分别在 0、1、2、4、24、30 h 等 6 个时间段按 2.4 方法进样测定,记录甘油、内标色谱峰峰面积、保留时间(retention time, RT)。如表 3 结果所示,甘油含量的相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)RSD=2.86%(n=6),符合 GB/T 27404-2008《实验室质量控制规范,食品理化检测》^[23]对检测结果精密度的要求。表明处理后的样液在 16 h 内稳定性良好。

3.5 方法的线性范围、回收率、精密度和检测限

称取 5 份阴性蜂蜜样品 5.0 g 于 90 mm 蒸发皿中,各加入赤藓糖醇使用液 100 μ L,再各加入 2 mg/mL 甘油工作标准液 125、250、500 μ L,20 mg/mL 甘油工作标准液 125、250 μ L,之后从 2.3“加入水 1 mL”起进行处理,得到阴性基质标准曲线工作溶液。阴性基质中甘油标准溶液系列质量浓度为 50、100、200、500、1000 mg/kg,对阴性基质样品

进行处理和测定,以甘油峰面积与赤藓糖醇峰面积的比值(Y)对质量浓度(X, mg/kg)绘制工作曲线,回归方程为 $Y=0.001212X+0.006932$ 。甘油在 50 ~ 1000 mg/kg 范围内线性良好,相关系数 $r^2=0.9996$,满足定量分析要求。此方法的检测限和定量限分别为 12 和 36 mg/kg。

在蜂蜜阴性样品中分别添加 50、200、500 mg/kg 的甘油标准溶液,按照“2.3”方法处理后做回收率实验,每个添加水平重复测定 3 次。结果如表 4 所示,添加回收率分别为 94.8%、96.7%和 102.9%,相对标准偏差分别为 5.3%、4.2%和 2.9%。

3.6 实际样品的测定

按本文建立的方法对来自蜂蜜出口企业的 34 个不同花种的蜂蜜样品进行测定,结果见表 5。

用本研究检测了 5 份样品,并与 GH/T 1106 质谱法检测的结果比较,结果见表 6。

表 3 蜂蜜中甘油稳定性检测
Table 3 Stability determination of glycerin in honey

序号	甘油峰面积	内标峰面积	甘油含量/(mg/kg)	RT 甘油	RT 内标
1	44786	103688	362.2	6.490	9.240
2	43179	104303	350.4	6.493	9.240
3	43588	100006	365.4	6.495	9.240
4	43989	100437	352.6	6.494	9.243
5	42273	94874	373.4	6.492	9.245
6	45998	102625	375.6	6.495	9.246
平均			363.3		
RSD%			2.86		

表 4 空白蜂蜜中甘油的加标回收率和精密度
Table 4 Recoveries and precisions of glycerin spiked in blank honey samples

	添加水平/(mg/kg)	回收率 (n=3)/%	精密度 (n=3)/%
甘油	50	94.8	5.3
	200	96.7	4.2
	500	102.9	2.9

表 5 各种蜂蜜中甘油残留量测定结果
Table 5 Determination of glycerin residues in various honeys

序号	蜂蜜名称	编号	甘油峰面积	内标峰面积	甘油含量/(mg/kg)
1	洋槐蜜	WH20190517-1	12210	94190	112.7
2	紫云英	WH170529-2	17200	91052	161.6
3	茴香蜜	NX180611-1	38764	104482	311.9
4	椴树蜜	WH181110-2	157017	100303	1297.6*
5	油菜蜜	WH190507-2	96017	106752	748.0

续表 5

序号	蜂蜜名称	编号	甘油峰面积	内标峰面积	甘油含量/(mg/kg)
6	苹果蜜	2019	78117	106298	612.2
7	枸杞蜜	19N-	4277	100331	40.9*
8	枇杷蜜	2019	479361	108392	3655.5*
9	杂花蜜	WH190724-3	61251	108904	469.9
10	荆条蜜	WH190826-2	42264	106977	331.8
11	党参蜜	190825	109064	108557	834.8
12	油菜蜜	WH190705-2	562954	103484	4495.2*
13	乌柏蜜	WH180711-1	54321	113146	401.9
14	荔枝蜜	WH180503-1	33803	97973	290.5
15	枣花蜜	NX190509-1	29089	95981	255.8
16	杂花蜜	WH190524-1	7907	92558	76.2
17	橡胶蜜	WH170717-1	160558	98467	1351.4*
18	荔枝蜜	WH180529-3	106297	96077	918.8
19	柑桔蜜	WH150518-1	270925	93821	2388.8*
20	葵花蜜	WH190912-1	83446	101704	682.8
21	杂花蜜	TX160602	183842	77269	1969.2*
22	荞麦蜜	内蒙 170815	30320	107828	237.8
23	黄芪蜜	WH141111	376228	102223	3043.1*
24	苕子蜜	WH1705	174355	102071	1415.4*
25	苜蓿蜜	NX170420	110980	89690	1026.9*
26	苦豆草	NX180811-1	68980	90248	636.5
27	老瓜头	NX181029-2	52181	105055	415.6
28	泡桐蜜	WH190517-2	5686	105011	50.4
29	龙眼蜜	WH180518-1	279139	101256	2280.8*
30	椴树蜜	WH180716-2	129292	100462	1067.8*
31	山花蜜	WH1906	65305	105138	518.3
32	桔子蜜	WH180516	46421	83001	467.8
33	190425-1	190425-1	39928	97381	344.1
34	200518-1	200518-1	13903	84719	141.2

注: *为超出线性范围结果。

表 6 蜂蜜中甘油残留量测定结果比较
Table 6 Comparison of determination of glycerin residues in honeys

样品编号	本研究结果 /(mg/kg)	GC/MS/MS 结果 /(mg/kg)	RSD /%
A	305	289.7	3.64
B	1120	1060	3.89
C	1005	985.6	1.38
D	749	700.1	4.77
E	344	327	3.58

结果表明, 本研究的方法与 GH/T 1106 方法结果符合精密度的要求。

4 结 论

本研究建立了用水和乙醇溶解样品, 经微粉硅胶吸附、乙腈提取、离心、蒸干、用流动相溶解、经高效液相色谱示差检测器测定蜂蜜中甘油的检测方法。在阴性蜂蜜基质中回收率在 94.8%~102.9%, 相对标准偏差 2.9%~5.3%。通过高效液相色谱示差检测器测定蜂蜜中甘油, 此方法具有简便、快速、重复性好、准确度高等特点,

可为前线蜂蜜质量控制提供简便实用的检测方法。

参考文献

- [1] Shen S, Wang JB, Zhuo Q, *et al.* Quantitative and discriminative evaluation of contents of phenolic and flavonoid and antioxidant competence for Chinese honeys from different botanical origins [J]. *Molecules*, 2018, 23(5): 1110.
- [2] Silva PM, Gauche C, Gonzaga LV, *et al.* Honey: Chemical composition, stability and authenticity [J]. *Food Chem*, 2016, 196: 309–323.
- [3] Khan RU, Naz S, Abudabos AM. Towards a better understanding of the therapeutic applications and corresponding mechanisms of action of honey [J]. *Environ Sci Pollut Res Int*, 2017, 24(36): 27755–27766.
- [4] Mandal MD, Mandal S. Honey: Its medicinal property and antibacterial activity [J]. *Asian Pac J Trop Biomed*, 2011, 1(2): 154–160.
- [5] 吴黎明, 薛晓峰, 彭文君, 等. 成熟蜂蜜评价指标探讨[J]. *中国蜂业*, 2019, 6: 18–19.
- Wu LM, Xue XF, Peng WJ, *et al.* Discussion on evaluation index of ripe honey [J]. *Apic China*, 2019, 6: 18–19.
- [6] 李亮, 孙萍, 宁准梅, 等. 不同条件下酶法测定蜂蜜中甘油含量的研究[J]. *中国农业科技导报*, 2018, 20(2): 86–92.
- Li L, Sun P, Ning ZM, *et al.* Determination of glycerol content in honey by enzymatic method under different conditions [J]. *J Agric Sci Technol*, 2018, 20(2): 86–92.
- [7] GB/T 18932.6-2002 蜂蜜中甘油含量的测定方法 紫外分光光度法[S]. GB/T 18932.6-2002 Method for determination of glycerol content in honey-Ultraviolet spectrophotometry [S].
- [8] GH/T 1106-2015 蜂蜜中丙三醇含量的测定 气相色谱-质谱法[S]. GH/T 1106-2015 Determination of glycerol content in honey-Gas chromatography-mass spectrometry [S].
- [9] 蒋小良, 王斌, 贾长生, 等. 高碘酸氧化法快速测定进口粗甘油中甘油含量[J]. *化学分析计量*, 2013, 22(3): 23–25.
- Jiang XL, Wang B, Jia CS, *et al.* Rapid determination of glycerol content in imported crude glycerol by periodic acid oxidation method [J]. *Chem Anal Meter*, 2013, 22(3): 23–25.
- [10] 李华, 邓林. 改良分光光度法快速测定甘油的探究[J]. *食品与发酵科技*, 2017, 53(1): 95–97.
- Li H, Deng L. Study on the rapid determination of glycerol by improved spectrophotometry [J]. *Food Ferment Sci Technol*, 2017, 53(1): 95–97.
- [11] 冯东, 李秋顺, 王丙莲, 等. 甘油检测技术研究进展[J]. *山东科学*, 2016, 29(2): 57–63.
- Feng D, Li QS, Wang BL, *et al.* Research progress of glycerol detection technology [J]. *Shandong Sci*, 2016, 29(2): 57–63.
- [12] 周伟燕, 刘蕾, 张传宝, 等. 同位素稀释液相色谱串联质谱法测定血清总甘油[J]. *中华检验医学杂志*, 2008, 31(3): 254–257.
- Zhou WY, Liu L, Zhang CB, *et al.* Determination of total glycerol in serum by isotope dilution liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Chin J Lab Med*, 2008, 31(3): 254–257.
- [13] 王春华. 固-液萃取技术及应用[J]. *内蒙古石油化工*, 2007, (11): 25–26.
- Wang CH. Solid-liquid extraction technology and its application [J]. *Inner Mongolia Pet Ind*, 2007, (11): 25–26.
- [14] 张瑶, 李宝才, 陈浩, 等. HPLC-ELSD 测定小桐子生物柴油副产物甘油含量[J]. *光谱实验室*, 2011, 28(5): 2584–2589.
- Zhang Y, Li BC, Chen H, *et al.* Determination of by-product of glycerol in jatropha biodiesel oil by HPLC-ELSD [J]. *Chin J Spectrosc Lab*, 2011, 28(5): 2584–2589.
- [15] 黎艳刚, 李丽云, 沈加水, 等. HPLC-RID测定布洛芬口服溶液中甘油、山梨醇的含量[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2019, 31(6): 71–73.
- Li YG, Li LY, Shen JY, *et al.* Content determination of glycerol and sorbitol in ibuprofen oral solution by HPLC-RID [J]. *Chin J Exp Tradit Med Formul*, 2019, 31(6): 71–73.
- [16] 邵杰, 孙建合, 韩忠丽. HPLC-RID 测定盐酸西替利嗪搽剂中甘油的含量[J]. *药学研究*, 2014, 33(11): 640–644.
- Shao J, Sun JH, Han ZL. Determination of glycerol in cetirizine hydrochloride liniment by HPLC-RID [J]. *J Pharm Res*, 2014, 33(11): 640–644.
- [17] 岳美娥, 牛翔. 高效液相色谱法测定卤虫卵中海藻糖和甘油的含量[J]. *化学试剂*, 2009, 31(5): 375–376.
- Yue ME, Niu X. Determination of trehalose and glycerol in artemias by high performance liquid chromatography [J]. *Chem Reagent*, 2009, 31(5): 375–376.
- [18] 吴学倩, 贺立东. 利用高效液相色谱法测定啤酒中的甘油含量[J]. *啤酒科技*, 2015, (7): 27–30.
- Wu XQ, He LD. Determination of glycerol content in beer by high performance liquid chromatography [J]. *Beer Technol*, 2015, (7): 27–30.
- [19] 苏碧华, 王介庆, 许激扬. 新型药用辅料微粉硅胶在药物制剂生产中的应用[J]. *中国药业*, 2005, (14): 76.
- Su BH, Wang JQ, Xu JY. Application of new-type pharmaceutical excipients micro-powder silica gel in the production of pharmaceutical preparations [J]. *China Pharm*, 2005, (14): 76.
- [20] 王学凯, 王金淑, 杜玉成, 等. 硅藻土功能化及其应用[J]. *材料导报*, 2020, (34): 3017–3027.
- Wang XK, Wang JS, Du YC, *et al.* Functionalization of diatomite and its applications [J]. *Mater Rep*, 2020, (34): 3017–3027.
- [21] 丁静, 杨晓西, 杨建平, 等. 热处理对多微孔活性硅胶吸附特性的影响[J]. *华南理工大学学报*, 1999, (27): 44–48.
- Ding J, Yang XX, Yang JP, *et al.* The effects of thermal treatment on the adsorption properties of microporous activated silica gel [J]. *J South China Univ Technol*, 1999, (27): 44–48.

[22] 戚荣平, 孟琪, 桑娟, 等. 聚酰胺粉吸附-高效液相色谱法测定蜜饯中合成着色剂[J]. 中国卫生检验杂志, 2015, (25): 1525-1527.

Qi RP, Meng Q, Sang X, *et al.* Determination of synthetic colorants in preserved fruit by polyamide adsorption-HPLC [J]. *Chin J Health Lab Technol*, 2015, (25): 1525-1527.

[23] GB/T 27404-2008 实验室质量控制规范 食品理化检测[S].

GB/T 27404-2008 The quality control specifications in laboratory -Determination of food physics and chemistry [S].

(责任编辑: 张晓寒)

作者简介



周 萍, 高级工程师, 主要研究方向为蜂产品检测与研发。

E-mail: tdbjhn@126.com.



胡福良, 博士, 教授, 主要研究方向为蜜蜂、蜂产品及功能性食品科学。

E-mail: flhu@zju.edu.cn.



“粮油加工与质量安全”专题征稿函

民以食为天, 食以安为先。食品安全的源头在农业, 粮油产品是基础。我国作为粮食生产大国和人口大国, 粮油质量安全受到政府、产业和消费者的高度关注。与此同时, 随着乡村振兴战略和农业高质量发展, 发掘不同产地、不同品种粮油产品特异品质, 促进优质粮油产品开发, 是推动粮油产业高质量发展、满足人民日益增长的消费需要的重要举措。

鉴于此, 本刊特别策划了“粮油加工与质量安全”专题, 主要围绕粮油加工工艺、质量安全检测技术研究、粮油产品特异品质挖掘与评价、粮油产品质量安全风险评估、真实性与产地溯源、检测方法的标准化和分析质量控制技术以及粮油质量安全管理技术等方面展开论述和研究, 本专题计划在 2021 年 3 月出版。

鉴于您在该领域的成就, 本刊主编吴永宁技术总师特别邀请您为本专题撰写稿件, 以期进一步提升该专题的学术质量和影响力。综述及研究论文均可, 请在 2021 年 1 月 20 日前通过网站或 E-mail 投稿。我们将快速处理并优先发表。

同时, 希望您能够推荐该领域的相关专家并提供电话和 E-mail。

感谢您的参与和支持!

投稿方式:

网站: www.chinafoodj.com

E-mail: jfoods@126.com(注明专题)

《食品安全质量检测学报》编辑部