

前 言

GB/T 18932 的本部分等同采用美国公职分析化学师协会(AOAC)官方方法 958.09《蜂蜜的糖化活性》(英文版),仅对个别内容作了编辑性修改。

本部分的附录 A 为资料性附录。

本部分由中华人民共和国秦皇岛出入境检验检疫局提出。

本部分由中华全国供销合作总社归口。

本部分负责起草单位:中华人民共和国秦皇岛出入境检验检疫局。

本部分参加起草单位:国家蜂产品质量监督检验中心。

本部分主要起草人:庞国芳、付宝莲、李子健、马兰宇。

本部分系首次发布的国家标准。

蜂蜜中淀粉酶值的测定方法

分光光度法

1 范围

GB/T 18932 的本部分规定了蜂蜜中淀粉酶值的分光光度测定方法。

本部分适用于蜂蜜中淀粉酶值的测定。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过 GB/T 18932 的本部分的引用而成为本部分的条款。凡是注日期的引用文件,其随后所有的修改单(不包括勘误的内容)或修订版均不适用于本部分,然而,鼓励根据本部分达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件,其最新版本适用于本部分。

GB/T 6379 测试方法的精密度 通过实验室间试验确定标准测试方法的重复性和再现性 (GB/T 6379—1986, neq ISO 5725:1981)

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法 (GB/T 6682—1992, neq ISO 3696:1987)

3 原理

将淀粉溶液加入蜂蜜样品溶液中,部分淀粉被蜂蜜中所含的淀粉酶水解后,剩余的淀粉与加入的碘反应而产生蓝紫色,随着反应的进行,其蓝紫色反应逐渐消失。用分光光度计于 660 nm 波长处测定其达到特定吸光度所需要的时间。换算出 1 g 蜂蜜在 1 h 内水解 1% 淀粉的毫升数。

4 试剂与材料

除另有说明外,所有试剂均为分析纯,水为 GB/T 6682 规定的一级水。

4.1 碘。

4.2 碘化钾。

4.3 乙酸钠($\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$)。

4.4 冰乙酸。

4.5 氯化钠。

4.6 可溶性淀粉。

4.7 碘储备液:称取 8.8 g 碘(4.1)于含有 22 g 碘化钾(4.2)的 30 mL~40 mL 水中溶解,用水定容至 1 000 mL。

4.8 碘溶液:称取 20 g 碘化钾,用水溶解,再加入 5.0 mL 碘储备液(4.7),用水定容至 500 mL。每两天制备一次。

4.9 乙酸盐缓冲液:pH 5.3(1.59 mol/L)。称取 87 g 乙酸钠(4.3)于 400 mL 水中,加入 10.5 mL 冰乙酸(4.4),用水定容至 500 mL。必要时,用乙酸钠或冰乙酸调节 pH 至 5.3。

4.10 氯化钠溶液:0.5 mol/L。称取 14.5 g 氯化钠(4.5),用水溶解并定容至 500 mL。

4.11 淀粉溶液:溶解 2.000 g 可溶性淀粉(4.6)于 90 mL 水中,迅速煮沸后再微沸 3 min 至室温后,移至 100 mL 容量瓶中并定容。

5 仪器

- 5.1 分光光度计。
- 5.2 恒温水浴锅。

6 试样的制备与保存

6.1 试样的制备

无论有无结晶的实验室样品都不要加热。
将样品搅拌均匀。分出 0.5 kg 作为试样,制备好的试样置于样品瓶中,密封,并加以标识。

6.2 试样的保存

将样品于常温下保存。

7 测定步骤

7.1 淀粉溶液的标定

吸取 5.0 mL 淀粉溶液(4.11)和 10.0 mL 水并分别置于 40 ℃ 水浴中 15 min。将淀粉溶液倒入 10.0 mL 水中并充分混合后,取 1.0 mL 加到 10.0 mL 的碘溶液(4.8)中,混匀,用一定体积的水稀释后,以水为空白对照,用分光光度计于 660 nm 波长处测定吸光度,确定产生 0.760±0.02 吸光度所需稀释水的体积数,并以此体积数作为样品溶液的稀释系数。当淀粉来源改变时,应重新进行标定。

7.2 测定

7.2.1 分光光度计条件:

- a) 波长:660 nm;
- b) 参比物:水。

7.2.2 样品处理:称取 5 g 试样,精确到 0.01 g。置于 20 mL 烧杯中,加入 15 mL 水和 2.5 mL 乙酸盐缓冲液(4.9)后,移入含有 1.5 mL 氯化钠溶液(4.10)的 25 mL 容量瓶中并定容(样品溶液应先加缓冲液后再与氯化钠溶液混合)。

7.2.3 吸取 5.0 mL 淀粉溶液、10.0 mL 样品溶液(7.2.2)和 10.0 mL 碘溶液,分别置于 40 ℃ 水浴中 15 min。将淀粉溶液倒入样品溶液中并以前后倾斜的方式充分混合后开始计时。

7.2.4 5 min 时取 1.0 mL 样品混合溶液(7.2.3)加入 10.0 mL 的碘溶液中,再用淀粉溶液标定时确定的稀释水的体积数进行稀释并用前后倾斜的方式充分混匀后,以水为空白对照,用分光光度计于 660 nm 波长处测定吸光度。

7.2.5 如吸光度大于 0.235 (特定吸光度),应继续按 7.2.4 步骤重复操作,直至吸光度小于 0.235 为止。

7.2.6 待测期间,样品混合溶液、碘溶液和水应保存在 40 ℃ 水浴中。吸光度与终点值的相对应时间参见附录 A。

7.3 计算

在对数坐标纸上,以吸光度(%)为纵坐标,时间(min)为横坐标,将所测的吸光度与其相对应的时间在数坐标纸上标出,连接各点划一直线。从直线上查出样品溶液的吸光度与 0.235 交叉点上的相对应时间,结果按式(1)计算:

$$X = \frac{300}{t} \dots\dots\dots (1)$$

式中:
X——样品溶液中的淀粉酶值,单位为毫升每克小时[mL/(g·h)];
t——相对应时间,单位为分(min)。

计算结果表示到小数点后一位。

注：如 5 min 时初测的数据已接近吸光度 0.235，而另一测定数据又很快达到吸光度 0.200 左右，说明该样品的淀粉酶值含量高[大于 35 mL/(g·h)]。但为了结果的准确，应重复测定。即从开始计时起，每分钟测定一次；对于淀粉酶值含量低的样品，应每 10 min 测定一次，通过若干个数据划线即可预测其终点值，但 5 min 时初测的数据不能用于终点值的预测。

8 精密度

本部分的精密度数据是按照 GB/T 6379 的规定确定的，其重复性和再现性的值是以 95% 的可信度来计算。

8.1 重复性

在重复性条件下，获得的两次独立测试结果的绝对差值不超过重复性限 (r)。本部分的重复性限按方程式(2)计算：

$$r = 0.5508m - 5.7854 \quad \dots\dots\dots(2)$$

式中：

m ——两次测定值的平均值，单位为毫升每克小时[mL/(g·h)]。

如果两次测定值的差值超过重复性限，应舍弃试验结果并重新完成两次单个试验的测定。

8.2 再现性

在再现性条件下，获得的两次独立测试结果的绝对差值不超过再现性限 (R)。本部分的再现性限按方程式(3)计算：

$$R = -0.1974m + 5.9927 \quad \dots\dots\dots(3)$$

式中：

m ——两次测定值的平均值，单位为毫升每克小时[mL/(g·h)]。

附 录 A
(资料性附录)

吸光度与终点值的相对应时间表

吸光度与终点值的相对应时间表,见表 A.1。

表 A.1

吸光度	终点值/min
0.7	>25
0.65	20~25
0.6	15~18
0.55	11~13
0.5	9~10
0.45	7~8
