

ICS 67.180.10  
X 31



# 中华人民共和国国家标准

GB/T 18932.18—2003

蜂蜜中羟甲基糠醛含量的测定方法  
液相色谱-紫外检测法

Method for the determination of hydroxymethylfurfural in honey—  
HPLC-UV detection method

2003-12-26 发布

2004-06-01 实施

中华人民共和国  
国家质量监督检验检疫总局 发布

387

## 前 言

GB/T 18932 的本部分修改采用加拿大标准方法 ACC-021-V2.0《蜂蜜中羟甲基糠醛含量的测定方法——高效液相色谱法》，修改的主要内容是：

- 二极管阵列检测器改为紫外检测器；
- 样品称样质量由 12.50 g 改为 10.00 g；
- 方法检出限由 2.0 mg/kg 改为 1.0 mg/kg。

本部分的附录 A 和附录 B 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。

本部分主要起草人：庞国芳、刘永明、曹彦忠、范春林、张进杰、李学民、贾光群、李元。

本部分系首次发布的国家标准。

## 蜂蜜中羟甲基糠醛含量的测定方法 液相色谱-紫外检测法

### 1 范围

GB/T 18932 的本部分规定了蜂蜜中羟甲基糠醛含量的液相色谱测定方法。

本部分适用于蜂蜜中羟甲基糠醛含量的测定。

本部分的方法检出限:1.0 mg/kg。

### 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

蜂蜜样品中的羟甲基糠醛经 HPLC 反相色谱柱分离,用液相色谱仪紫外检测器检测。用标准曲线外标法定量。

### 4 试剂和材料

4.1 水:GB/T 6682 规定的一级水。

4.2 甲醇:色谱纯。

4.3 甲醇溶液:10%,吸取 100 mL 的甲醇到 1 000 mL 的容量瓶中,用水稀释至刻度。

4.4 标准物质:羟甲基糠醛纯度 $\geq 99\%$ 。

4.5 标准储备溶液:准确称取适量的羟甲基糠醛标准物质于 100 mL 容量瓶,用 10 mL 甲醇溶解,用水稀释至刻度,配成 0.20 mg/mL 的标准储备液。此溶液可在温度低于 4℃ 冰箱中冷藏保存两个月。

4.6 标准工作溶液:分别吸取适量的羟甲基糠醛标准储备溶液至 100 mL 容量瓶中,用 10% 甲醇溶液稀释至刻度,配成 0.10  $\mu\text{g/mL}$ , 0.20  $\mu\text{g/mL}$ , 1.0  $\mu\text{g/mL}$ , 2.0  $\mu\text{g/mL}$ , 4.0  $\mu\text{g/mL}$ , 6.0  $\mu\text{g/mL}$ , 10  $\mu\text{g/mL}$  标准工作溶液。当天新鲜配制。

### 5 仪器

5.1 高效液相色谱仪:配有紫外检测器。

5.2 分析天平:感量 0.01 g。

5.3 注射器:10 mL。

5.4 过滤膜:0.45  $\mu\text{m}$ 。

## 6 试样制备与保存

### 6.1 试样的制备

无论有无结晶的实验室样品,都不要加热。将其搅拌均匀,分出 0.5 kg 作为试样。制备好的试样置于样品瓶中,密封,并做上标记。

### 6.2 试样的保存

将试样于室温下保存。

## 7 测定步骤

### 7.1 试样处理

称取 10 g 试样,精确至 0.01g,置于 100 mL 烧杯中,加入 10 mL 甲醇(4.2),用玻璃棒轻轻搅拌均匀,使试样完全溶解。转移至 100mL 容量瓶中,用水稀释至刻度,充分混匀。用 0.45 μm 的滤膜过滤,滤液用于液相色谱仪紫外检测器测定。

### 7.2 色谱测定

#### 7.2.1 液相色谱条件

- a) 色谱柱: Diamonsil C<sub>18</sub> 5 μm, 250 mm×4.6mm(i. d)或相当者;
- b) 流动相: 甲醇+水(10+90);
- c) 流速: 1.0 mL/min;
- d) 检测波长: 285 nm;
- e) 柱温: 30℃;
- f) 进样量: 10 μL。

#### 7.2.2 液相色谱测定

首先测定七个标准工作溶液(4.6)在上述色谱条件下的峰面积,以峰面积对相应浓度绘制标准工作曲线,然后测定未知样品,用标准工作曲线对样品进行定量。样品溶液中羟甲基糠醛的响应值应在仪器的线性范围内。在上述色谱条件下,羟甲基糠醛的参考保留时间约为 12 min。羟甲基糠醛标准物质色谱图和含有羟甲基糠醛的蜂蜜样品色谱图参见附录 A 中图 A.1、图 A.2。

### 7.3 平行试验

按上述步骤,对同一试样进行平行试验测定。

### 7.4 空白试验

按上述步骤,对 10%的甲醇溶液进行测定。

### 7.5 添加试验

每批样品应至少进行一个样品的添加试验。称取 10 g 试样,精确至 0.01g,添加 1.0mL 羟甲基糠醛标准储备溶液,加 9.9 mL 甲醇溶解,其他步骤按试样处理步骤进行。

## 8 结果计算

结果按式(1)计算:

$$X = c \cdot \frac{V}{m} \cdot \frac{1\ 000}{1\ 000} \dots\dots\dots(1)$$

式中:

- X——试样中羟甲基糠醛含量,单位为毫克每千克(mg/kg);
- c——从标准工作曲线上得到的被测组分溶液浓度,单位为微克每毫升(μg/mL);
- V——定容体积,单位为毫升(mL);
- m——样液所代表试样的质量,单位为克(g)。

注：计算结果应扣除空白值。

9 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。

9.1 重复性

在重复性条件下，蜂蜜中羟甲基糠醛的含量在 2.0 mg/kg~40 mg/kg 范围内，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式(2)计算：

$$lgr = 0.649 5lgm - 1.304 3 \dots\dots\dots(2)$$

式中：

m——两次测定值的平均值，单位为毫克每千克(mg/kg)。

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。

9.2 再现性

在再现性条件下，蜂蜜中羟甲基糠醛的含量在 2.0 mg/kg~40 mg/kg 范围内，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式(3)计算：

$$R = 0.668 2 m + 0.124 3 \dots\dots\dots(3)$$

式中：

m——两次测定值的平均值，单位为毫克每千克(mg/kg)。



附录 A  
(资料性附录)

标准物质色谱图和含有羟甲基糠醛的蜂蜜样品色谱图

A.1 羟甲基糠醛(HMF)标准物质色谱图,见图 A.1。

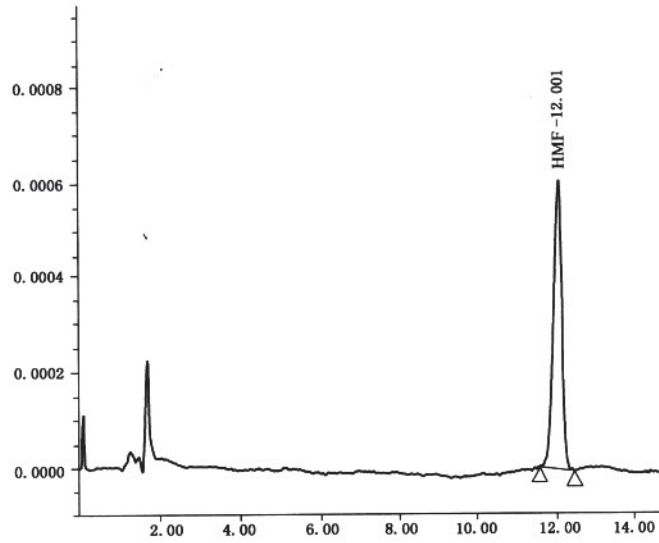


图 A.1

A.2 含有羟甲基糠醛的蜂蜜样品色谱图,见图 A.2。

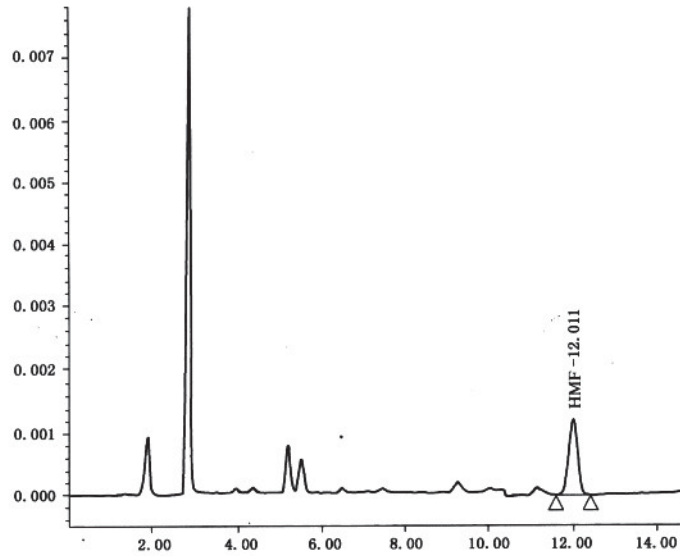


图 A.2

附 录 B  
(资料性附录)  
回收率

本方法中羟甲基糠醛添加浓度及其回收率的试验数据：  
在添加量为 1.0 mg/kg 时，平均回收率为 93.78%；  
在添加量为 10.0 mg/kg 时，平均回收率为 94.88%；  
在添加量为 40.0 mg/kg 时，平均回收率为 95.76%；  
在添加量为 100 mg/kg 时，平均回收率为 94.68%。

---