高效液相色谱法测定蜂蜜中羟甲基糠醛的含量

LC-380

摘要： 本文利用岛津 Essentia LC-16 高效液相色谱仪，建立了蜂蜜中羟甲基糠醛含量的检测方法。在 0.10~10.0 mg/L 浓度范围内，线性关系良好，相关系数 R 为 0.9999。对 0.10 mg/L 的标准溶液进行 6 次重复性测试，峰面积和保留时间的相对标准偏差分别为 1.31% 和 0.31%。在 0.20 mg/L、2.0 mg/L、6.0 mg/L 三个浓度的加标回收试验中，回收率在 98.0%~100.2% 之间。该方法适用于蜂蜜中羟甲基糠醛含量的测定。

关键词： 高效液相色谱　蜂蜜　羟甲基糠醛

技术特点：

❖ 采用样品结晶时低温加热溶解的前处理方式，减少高温下易生成羟甲基糠醛的干扰。

❖ ShimNexCS C18 色谱柱分离良好，可减少样品杂峰对目标物干扰。

蜂蜜的主要成分是葡萄糖和果糖，在高温条件下两者均易脱水生成 5- 羟甲基 -2- 糠醛（即羟甲基糠醛）。羟甲基糠醛的存在虽然不影响食品安全，但它是一种具有难闻气味的黑色物质，会导致蜂蜜味道的改变和颜色的加深，从而影响蜂蜜的感官质量和内在品质。中华全国供销合作行业标准 GH/T 18796-2012《蜂蜜》将羟甲基糠醛作为考量蜂蜜新鲜度一项重要指标，规定其含量要求小于 40 mg/kg。

蜂蜜在投放市场以前，必须经过浓缩、杀菌、过滤等加工处理，以防止产品结晶和发酵，同时去除蜂蜜中的有害杂质和微生物。蜂蜜的加工处理不当，不仅会破坏其中的维生素和生物活性成分，同时会造成淀粉酶活性的降低和羟甲基糠醛含量的增加。因此，蜂蜜在加工过程中应严格控制加热温度和加热时间。通过监控加工过程中的羟甲基糠醛含量变化，可以指导加工工艺优化，提升产品的质量。

本文参照 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》，利用岛津高效液相色谱仪 Essentia LC-16，建立了蜂蜜中羟甲基糠醛的测定方法。

■ 实验部分

1.1 仪器

本文使用岛津 Essentia LC-16 高效液相色谱仪，配置信息如下：

系统控制器 ：	CBM-20Alite	脱气机 ：	DGU-20A3R
输液泵 ：	LC-16×2	柱温箱 ：	CTO-16L
自动进样器 ：	SIL-16	检测器 ：	SPD-16
色谱工作站 ：	Labsolutions Ver. 5.98		

1.2 分析条件

液相色谱条件如下：

色谱柱 ： ShimNexCS C18（250 mm x 4.6 mmI.D.，5 μm，岛津（上海）实验器材有限公司，P/N:380-01230-01）

流动相 ： A- 水；B- 甲醇

进样体积 ：	10 μL	柱温 ：	30°C
流速 ：	1.0mL/min	洗脱方式 ：	等度洗脱，A:B=90:10（v/v）
检测波长 ：	285 nm		

1.3 样品前处理

按照 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》处理方式，流程见图 1。

称取 10 g（精确至 0.01 g）用搅拌均匀的样品，置于 100 mL 的烧杯中

↓

加入 10 mL 甲醇，玻璃棒搅拌均匀，使试样完全溶解

↓

转移至 100 mL 容量瓶中，用水稀释定容至刻度，摇匀

↓

0.45 μm 有机滤膜过滤

↓

上机分析

图 1　样品前处理流程

注：样品结晶时，可将样品盖好置于 20-25°C水浴中低温加热溶解，搅拌均匀后再取样称量。

1.4 标准溶液配置

羟甲基糠醛标准储备液：称取 20 mg（精确至 0.01 mg）的羟甲基糠醛标准物质（纯度 99.9%）于 100 mL 容量瓶中，用 10 mL 甲醇溶解，用水稀释定容至刻度，混匀，得到 0.20 mg/mL 的标准储备液。4°C冰箱低温保存。

羟甲基糠醛标准工作溶液：取 8 个干净的 100 mL 容量瓶，用移液器依次加入 0.05 mL、0.10 mL、0.50 mL、1.0 mL、2.0 mL、3.0 mL、5.0 mL 羟甲基糠醛标准储备液，用 10% 甲醇水溶液稀释定容至刻度，摇匀，得浓度为 0.10 mg/L、0.20 mg/L、1.0 mg/L、2.0 mg/L、4.0 mg/L、6.0 mg/L、10.0 mg/L 的标准工作溶液。

■ 结果与讨论

2.1 标准品色谱图

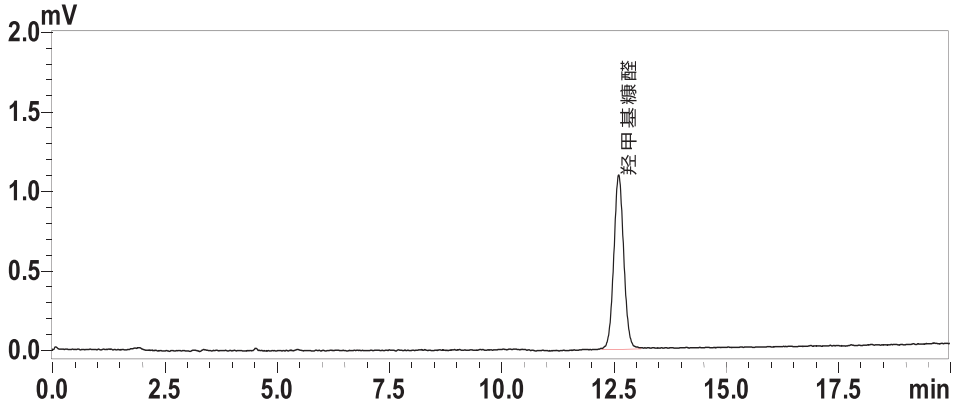

图 2　羟甲基糠醛标准溶液色谱图（0.20 mg/L）

表 1　羟甲基糠醛信息表

化合物名称	英文名称	CAS 号	保留时间（min）
羟甲基糠醛	5-Hydroxymethyl-2-furfural	67-47-0	12.618

2.2 线性

取 1.4 配制得到的羟甲基糠醛标准工作溶液分别进样，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标绘制标准曲线，在 0.10~10.0 mg/L 范围内，线性相关系数为 0.9999。如图 3 所示。测试 0.10 mg/L 标准工作溶液，得检出限（S/N=3）为 0.0027 mg/L, 定量限（S/N=10）为 0.0090 mg/L。

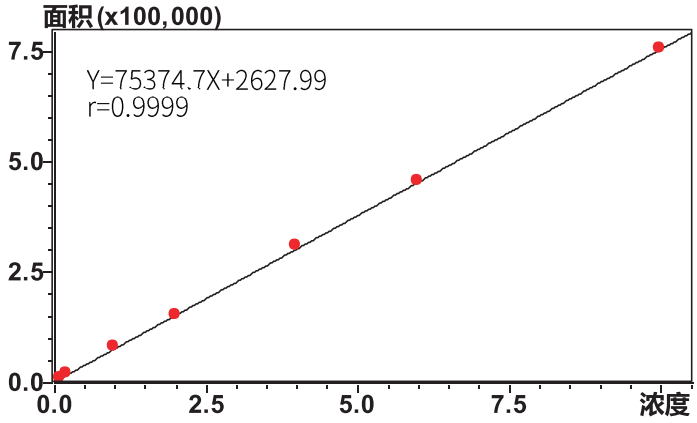

图 3　羟甲基糠醛标准曲线

2.3 重复性实验

对 0.10 mg/L 的标准工作溶液，进行连续 6 次平行测定，考察重复性，其峰面积的 RSD 为 1.31%、保留时间的 RSD 为 0.31%。

2.4 样品测定和加标回收率考察

随机抽取市售蜂蜜和农家自采蜂蜜各 1 瓶，按照 1.3 样品前处理制备得到样品溶液，测定其羟甲基糠醛的含量，同时对市售蜂蜜样品分别进行 0.20 mg/L、2.0 mg/L 和 6.0 mg/L 浓度各 3 份平行加标，色谱图如图 4 所示，测定结果见表 2。结果显示：市售蜂蜜和农家自采蜂蜜样品羟甲基糠醛含量分别为 6.09 mg/kg、28.42 mg/kg，市售蜂蜜加标平均回收率在 98.0%~100.2% 之间，相对标准偏差 RSD% 在 0.66%~1.24% 之间。

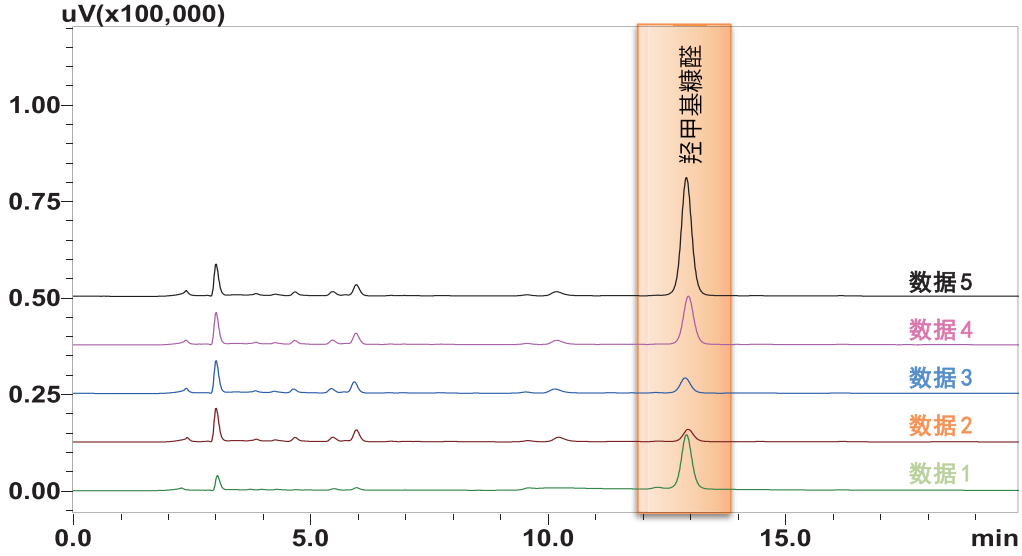

图 4. 蜂蜜样品、蜂蜜样品加标色谱图

（数据 1：农家自采蜂蜜样品；数据 2：市售蜂蜜样品；数据 3：市售蜂蜜加标 0.2 mg/L 样品；数据 4：市售蜂蜜加标 2.0 mg/L 样品；数据 5：市售蜂蜜加标 6.0 mg/L 样品）

表 2　蜂蜜样品羟甲基糠醛含量测定及加标试验结果（n=3）

样品名称	样品重量 (g)	实测浓度 (mg/L)	试样含量 (mg/kg)	0.2 mg/L 加标量		2.0 mg/L 加标量		2.0 mg/L 加标量	
				回收率 (%)	RSD (%)	回收率 (%)	RSD (%)	回收率 (%)	RSD (%)
市售蜂蜜	10.31	0.628	6.09	99.6	1.24	100.2	0.53	98.0	0.66
农家自采蜂蜜	10.16	2.888	28.42	——	——	——	——	——	——

结论

本文采用 Essentia LC-16 高效液相色谱仪建立了蜂蜜中羟甲基糠醛含量的测定方法。方法前处理简单，目标峰与杂质峰分离良好，干扰小。重复性测试和回收率试验结果表明，该方法回收率高，重现性好，可用于蜂蜜中的羟甲基糠醛含量的测定，为相关生产企业和检测机构提供参考。

岛津企业管理(中国)有限公司 – 分析中心
Shimadzu (China) Co., LTD. – Analytical Applications Center
Email: sshzyan@shimadzu.com.cn Tel: 86(21)34193996 http://www.shimadzu.com.cn