

T/GDFCA

团 体 标 准

T/GDFCA 082—XXXX

保健食品及中药材中 5-羟甲基糠醛含量的 测定 高效液相色谱法

Determination of 5-hydroxymethylfurfural in health food and Chinese herbal
medicine by HPLC method

(征求意见稿)

在提交反馈意见时，请将您知道的相关专利连同支持性文件一并附上。

2022 - XX - XX 发布

2022 - XX - XX 实施

广东省食品流通协会 发布

目 次

前 言	II
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 术语和定义	1
4 原理	1
5 试剂和材料	1
6 仪器和设备	1
7 测定步骤	1
8 结果计算和表述	2
9 检出限、定量限	3
10 精密度	3
11 回收率	3
附 录 A （资料性） 高效液相色谱法测定 5-羟甲基糠醛的典型色谱图	4

前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件由广东省食品流通协会提出并归口。

本文件起草单位：国家食品安全风险评估中心、无限极（中国）有限公司、华测检测认证集团股份有限公司、通标标准技术服务有限公司、佛山市沃特测试技术服务有限公司、广东省科学院生物与医学工程研究所、华南理工大学、江南大学、上海应用技术大学

本文件主要起草人：

保健食品及中药材中 5-羟甲基糠醛含量的测定 高效液相色谱法

1 范围

本文件规定了保健食品及中药材、中药饮片中5-羟甲基糠醛(5-HMF)含量的高效液相色谱测定方法。

本文件适用于茶剂、片剂、胶囊、颗粒剂、口服液等剂型保健食品及中药材、中药饮片中5-羟甲基糠醛(5-HMF)含量的测定，保健食品原辅料及其他植物性食品可参照执行。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 原理

试样经纯水提取，定容，过滤，滤液中5-羟甲基糠醛经反相液相色谱柱分离后，用二极管阵列检测器进行检测，用保留时间进行定性，外标法定量。

5 试剂和材料

除另有说明外，所用试剂均为分析纯。水采用GB/T 6682 规定的一级水。

5.1 甲醇(CH₃OH, CAS 号: 67-56-1): 色谱纯。

5.2 标准物质: 5-羟甲基糠醛标准物质(5-hydroxymethylfurfural, C₆H₆O₃, CAS 号: 67-47-0), 纯度≥98%。

5.3 标准储备液(1000 mg/L): 准确称取10 mg(精确至0.1 mg)5-羟甲基糠醛标准物质, 用甲醇溶解并定容到10 mL, 混合均匀。标准储备液避光于≤-18℃下储存, 保存期两个月。

5.4 标准工作溶液: 分别吸取适量的5-羟甲基糠醛标准储备液至10 mL容量瓶中, 用水稀释至刻度, 配成0.5 mg/L, 1.0 mg/L, 2.0 mg/L, 5.0 mg/L, 10.0 mg/L, 20.0 mg/L, 100.0 mg/L的标准工作溶液(可根据样品含量适当调节溶液的浓度), 临用现配。

6 仪器和设备

6.1 高效液相色谱仪: 配有二极管阵列检测器;

6.2 分析天平: 感量 0.001 g 和 0.000 1 g;

6.3 超声波清洗器: 功率900 W, 频率40 kHz;

6.4 离心机: 转速4000 rpm, 时间5 min;

6.5 微孔滤膜: 孔径0.45 μm和孔径 0.22 μm, 水系;

6.6 其它实验室常用器皿: 如离心管, 移液器等。

7 测定步骤

7.1 样品预处理

7.1.1 固态试样或半固态试样

取适量固态试样（如代用茶、中药材、中药饮片及片剂、胶囊内容物、颗粒剂等保健食品）混匀，研细，或取适量半固体试样（如软胶囊内容物）混匀，准确称取0.5 g~5.0 g（精确至0.001 g），置于50 mL容量瓶中，加水40 mL，在超声水浴温度30℃~40℃条件下超声处理30 min，取出放冷至室温，用水定容至刻度，摇匀，以4000 r/min离心5 min。取上清液经0.45 μm微孔滤膜过滤，取续滤液，待测。

7.1.2 液体试样

准确吸取摇匀后的试样5.0 mL（可根据试样含量而定），置于50 mL容量瓶中，加水40 mL，在超声水浴温度30℃~40℃条件下超声处理30 min，取出放冷至室温，用水定容至刻度，摇匀，以4000 r/min离心5 min。取上清液经0.45 μm微孔滤膜过滤，取续滤液，待测。

7.1.3 含乳试样

准确吸取摇匀后的试样5.0 mL（可根据试样含量而定），置于50 mL容量瓶中，加水40 mL，在超声水浴温度30℃~40℃条件下超声处理30 min，取出放冷至室温，用水定容至刻度，摇匀，以8000 r/min离心5 min。取上清液经0.22 μm微孔滤膜过滤，取续滤液，待测。

7.2 测定

7.2.1 液相色谱条件

7.2.1.1 色谱柱：C₁₈色谱柱，250 mm × 4.6 mm，5 μm，或性能相当者。

7.2.1.2 柱温：30℃。

7.2.1.3 流动相：甲醇+水（10+90，体积比），等度洗脱。

7.2.1.4 检测波长：284 nm。

7.2.1.5 进样量：10 μL。

7.2.1.6 流速：1.0 mL/min。

7.2.2 液相色谱测定

按照上述色谱条件下分别对标准工作溶液和样品试液进行检测，得到相应的标准工作液和样品试液中5-羟甲基糠醛的色谱峰面积，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标绘制标准曲线；以保留时间对样品进行定性，标准曲线外标法对样品定量。典型色谱图参见附录A。

7.3 空白试验

除不加样品试液外，均按上述步骤进行。

8 结果计算和表述

试样中5-羟甲基糠醛的含量按式（1）计算：

$$X = (c - c_0) \times V \times F / m \dots\dots\dots (1)$$

式中：

X ——试样中5-羟甲基糠醛含量，单位为毫克每千克或毫克每升（mg/kg 或 mg/L）；

c ——根据标准曲线测得样品溶液5-羟甲基糠醛质量浓度，单位为毫克每升（mg/L）；

c_0 ——根据标准曲线测得空白溶液5-羟甲基糠醛质量浓度，单位为毫克每升（mg/L）；

V ——样品定容体积，单位为毫升（mL）；

F ——样品溶液稀释倍数；

m ——样品取样量，单位为克或毫升（g 或 mL）。

计算结果应扣除空白值，计算结果用平行测定的算数平均值表示，保留三位有效数字。

9 检出限、定量限

当称样量为5.0 g 或5.0 mL，定容体积为50 mL时，本方法的检出限为1.0 mg/kg(mg/L)，定量限为2.0 mg/kg(mg/L)。空白试验应无干扰。

10 精密度

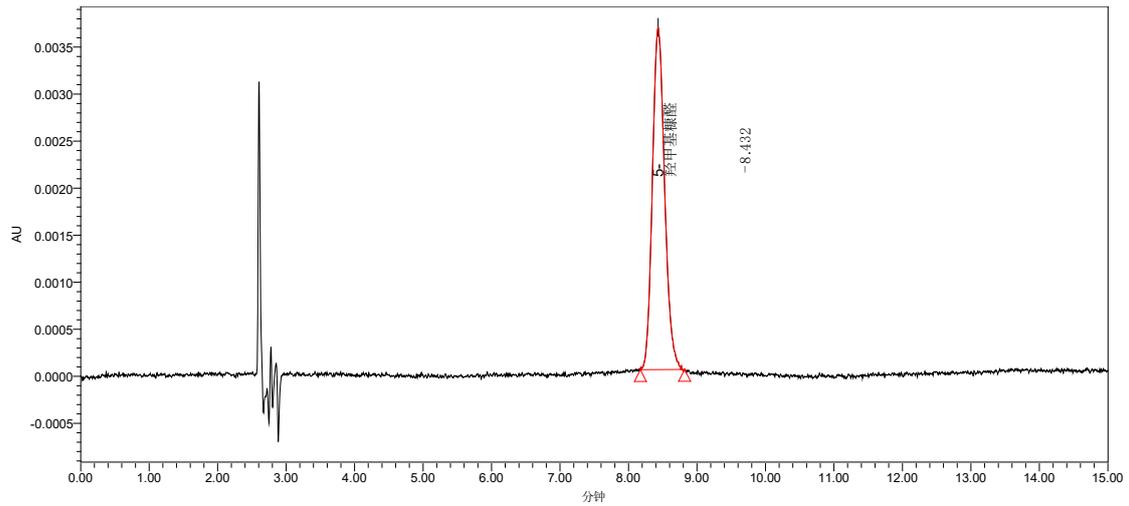
在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算数平均值的10%。

11 回收率

本方法线性范围为0.1 mg/kg(mg/L)~100 mg/kg(mg/L)，标准曲线相关系数 ≥ 0.999 ，回收率范围为80%~120%。

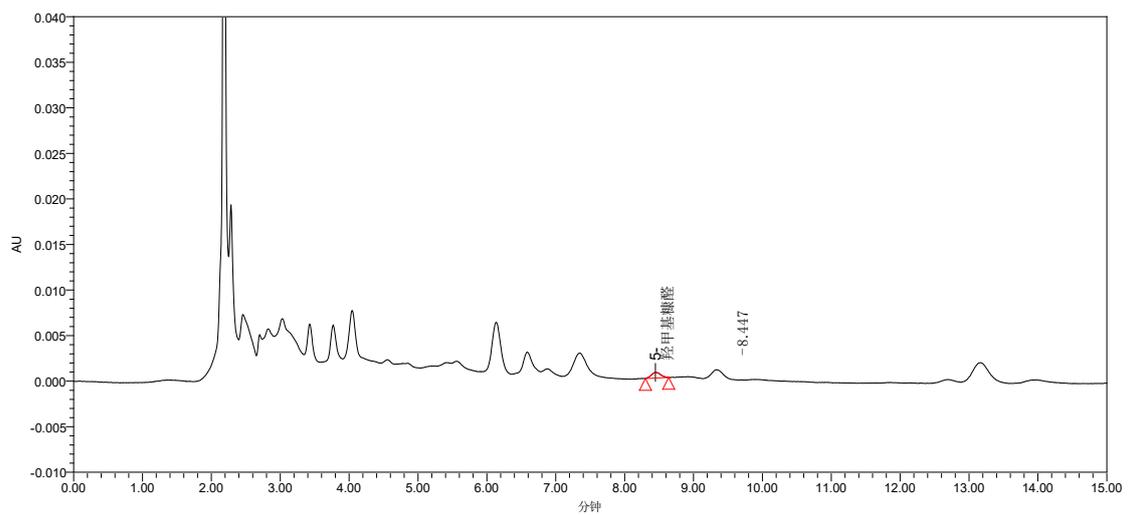
附录 A
(资料性)
高效液相色谱法测定 5-羟甲基糠醛的典型色谱图

A.1 5-羟甲基糠醛标准物质色谱图，见图A.1。



图A.1 5-羟甲基糠醛标准物质色谱图 (1.0mg/L)

A.2 含有 5-羟甲基糠醛的中药材 (黄精) 样品色谱图，见图A.2。



图A.2 含有 5-羟甲基糠醛的样品色谱图