

# 《食品中羟甲基糠醛、糠醛、呋喃甲基酮和甲基糠醛含量的测定》

## 编制说明（征求意见稿）

### 一、工作简况

#### 1、任务来源

本项目是《工业和信息化部 2020 年第二批行业标准制修订和外文版项目计划》（国标委综合〔2020〕181 号），《食品中羟甲基糠醛、糠醛、呋喃甲基酮和甲基糠醛的测定方法》（计划号：2020-0955T-QB）被列入标准制定计划，列入轻工行业标准计划。计划起草单位为光明乳业股份有限公司和中国食品发酵工业研究院有限公司等。本标准由全国特殊食品标准化委员会归口，计划应完成时间为 2022 年。

#### 2、主要工作过程

##### （1）起草阶段

2019 年 1 月-2019 年 5 月，本标准起草工作组通过查阅大量国内外食品中羟甲基糠醛、糠醛、呋喃甲基酮和甲基糠醛等相关国内外标准和文献，确定了研究方案。

2020 年 12 月 4 日，标准起草工作组在北京召开了第一次标准起草工作启动会议，讨论了标准的制定思路和标准的覆盖范围。经过研讨，确定了该标准的检测方法及相关内容，同时会上明确了工作分工。

2020 年 12 月~2021 年 4 月，通过对国内外食品中羟甲基糠醛、糠醛、呋喃甲基酮和甲基糠醛各方法的特点进行对比分析的基础上，选择高效液相色谱法进行食品中羟甲基糠醛、糠醛、呋喃甲基酮和甲基糠醛含量的测定。对样品的处理方法、提取的各影响条件、色谱分离条件等进行了优化，通过回收率、稳定性及精密度等一系列的研究，建立了食品中羟甲基糠醛、糠醛、呋喃甲基酮和甲基糠醛含量的测定方法-高效液相色谱，并形成标准讨论稿。

2021 年 5 月，起草组相关专家通过腾讯会议对该标准的重点技术进行交流和讨论，与会专家一致肯定了此项标准以及前期研究工作的意义，对食品中羟甲基糠醛、糠醛、呋喃甲基酮和甲基糠醛含量测定的前处理方法、色谱测定条件及标准溶液的标定并提出宝贵修改意见。

2021 年 6 月~2022 年 7 月，标准起草工作组根据修改的方案对标准的前处理方法、色谱测定条件及标准溶液的标定进行优化研究，并多家实验室的进行了方法验证工作，同时

根据前期讨论意见进一步修改标准文本，形成了标准征求意见稿。

### 3、主要参加单位和工作组成员及其所做的工作等

本标准主要单位成员包括： 。

主要成员： 。

所做的工作：特殊食品秘书处负责收集、分析国内外相关技术文献和资料，并对生产现状和发展情况进行了全面调研。光明乳业负责方法研究工作和本标准其他材料的编制和意见及建议进行归纳、分析。其他单位负责开展方法验证和意见修改等工作。

## 二、标准编制原则和主要内容

### 1、标准编制原则

以科学技术和实验数据为依据，结合产品实际生产情况，经过科学研究而制定。本标准的制定充分考虑食品（乳及乳制品、含乳饮料和乳基食品（包括婴幼儿配方食品、特殊医学用途配方食品、婴幼儿辅助食品、运动营养食品及营养补充品）行业发展，促进相应行业提高产品质量，增强企业的市场竞争力，确保标准的科学性、先进性、可操作性。

本标准起草过程中，主要按照 GB/T 1.1-2020《标准化工作导则 第 1 部分：标准的结构和编写》和 GB/T 1.2-2002《标准化工作导则 第 2 部分：标准中规范性技术要素内容的确定方法》等要求进行编写。

### 2、标准主要内容的论据

项目起草工作组查阅了国内食品（乳及乳制品、含乳饮料和乳基食品（包括婴幼儿配方食品、特殊医学用途配方食品、婴幼儿辅助食品、运动营养食品及营养补充品）的产品标准、测定方法等相关标准，通过检索国内外文献数据库，收集与食品中羟甲基糠醛、糠醛、呋喃甲基酮和甲基糠醛含量测定相关的国内外参考文献，比较不同的测定方法，采用液相色谱测定食品中羟甲基糠醛、糠醛、呋喃甲基酮和甲基糠醛含量测定，对样品提取的各影响因素、色谱分离条件等进行优化，对方法学进行了系统研究，最终形成了《食品中羟甲基糠醛、糠醛、呋喃甲基酮和甲基糠醛含量测定 高效液相色谱》行业标准报批稿。

本文件规定了食品中羟甲基糠醛、糠醛、呋喃甲基酮和甲基糠醛含量的高效液相色谱测定方法。

本文件适用于乳及乳制品、含乳饮料和乳基食品（包括婴幼儿配方食品、特殊医学用途配方食品、婴幼儿辅助食品、运动营养食品及营养补充品）。

### 3、解决的主要问题

食品中蛋白质的营养质量水平是评价食品质量优劣的重要指标。特别是对于高蛋白质食品如婴幼儿配方食品、儿童食品、老年食品等，其营养质量水平决定了产品的质量水平。乳制品及乳基特膳食品在热加工或高温贮存过程中会发生美拉德反应，产生不同的糠醛化合物，主要为羟甲基糠醛（HMF）、糠醛（F）、呋喃甲基酮（FMC）和甲基糠醛（MF），其含量与热加工程度关系密切。市面上有部分国际国内乳品品牌将高温灭菌的液态奶混在巴氏杀菌鲜牛奶货架出售、误导消费者的现象存在，所以食品中蛋白质营养质量的体外评价对于企业质量控制意义重大。

我国有两个相关标准，分别为 NY/T 1332-2007《乳及乳制品中 5-羟甲基糠醛含量的测定高效液相色谱法》以及 NY/T 939-2016《巴氏杀菌乳和 UHT 灭菌乳中复原乳的鉴定》，结合糠氨酸和乳果糖含量识别掺杂复原乳的标准，但尚未有识别巴氏杀菌鲜奶和高温灭菌奶的方法标准。但是缺乏对乳制品中四种糠醛类化合物的定量检测方法标准，缺乏识别巴氏杀菌乳和高温灭菌乳的鉴定方法。国际上未见相关标准，所以建立一种糠醛检测方法是必要的。

目前所见的几种方法各具优缺点，气相色谱氢火焰离子法的色谱柱耐用性差，花费高，灵敏性差；气质联用色谱法和液质联用色谱法的色谱柱耐用性差，花费高，灵敏性好；本标准的液相色谱紫外法的色谱柱耐用性好，花费低，灵敏度可达要求，可同时定量测定四种物质，且本方法与类似标准方法相比，定量限更低。各标准情况见表 1：

表 1 不同方法的比较

序号	标准	研究对象	采用方法	检测对象	检出限
1	NY_T 1332-2007 乳与乳制品中 5-羟甲基糠醛含量的测定	乳与乳制品	高效液相色谱法 (紫外检测器)	5-羟甲基糠醛（5-HMF，即羟甲基糠醛）	0.005 mg/kg
2	GB 28351-2012 食品安全国家标准 食品添加剂 5-甲基糠醛	食品	毛细管柱气象色谱分析（氢火焰离子化检测器）	5-甲基糠醛（MF）	-
3	SN_T 1859-2007 饮料中棒曲霉素和 5-羟甲基糠醛的测定方法	饮料	液质联用法 气质联用法	5-羟甲基糠醛(HMF)	1.0 mg/L（液质）； 1.0 mg/L（气质）；
4	DB61_T 968-2015 果汁及果脯糖浆中羟甲基糠醛的测定方法	果汁及果脯糖浆	液相色谱法（紫外检测器）	羟甲基糠醛（HMF）	0.3 mg/kg

5	GB_T 18932.18-2003 蜂蜜中羟甲基糠醛含量的测定方法	蜂蜜	液相色谱-紫外检测法	羟甲基糠醛(HMF)	1.0 mg/kg
6	SN_T 4675.8-2016 出口葡萄酒中 5-羟甲基糠醛的测定	出口葡萄酒	液相色谱法(紫外检测器)	5-羟甲基糠醛(HMF)	-
7	NYT939-2016 巴氏杀菌乳和 UHT 灭菌乳中复原乳的鉴定	巴氏杀菌乳和 UHT 灭菌乳	高效液相色谱法/超高效液相色谱法(紫外检测器)	鉴定复原乳(糠氨酸/乳糖)	糠氨酸: 1.0 mg/100g
8	ISO_18329_2004Milk and milk products-Determination of furosine content - Ion-pair reversephase high-performance liquidchromatography method	牛奶和奶制品	离子对反相高效液相色谱法	糠氨酸	-
9	本方法标准	乳与乳制品, 乳基特膳食品等	高效液相色谱法(紫外检测器)	HMF、F、FMC、FM	均为 0.005 mg/kg

因此建立一个准确有效的食品中羟甲基糠醛、糠醛、呋喃甲基酮和甲基糠醛的高效液相色谱检测方法对于填补我国食品中羟甲基糠醛、糠醛、呋喃甲基酮和甲基糠醛检测标准的不足、规范该行业高效液相色谱方法, 确保测定结果的可靠性, 促进企业质量控制和发展, 对产品市场监督管理也具有重要意义。

### 三、主要试验(或验证)情况分析

针对食品(乳及乳制品、含乳饮料和乳基食品(包括婴幼儿配方食品、特殊医学用途配方食品、婴幼儿辅助食品、运动营养食品及营养补充品)中羟甲基糠醛、糠醛、呋喃甲基酮和甲基糠醛含量测定方法进行了系统研究, 详细的研究见附件一。

(1) 提取条件研究: 通过对食品(乳及乳制品、含乳饮料和乳基食品(包括婴幼儿配方食品、特殊医学用途配方食品、婴幼儿辅助食品、运动营养食品及营养补充品)中羟甲基糠醛、糠醛、呋喃甲基酮和甲基糠醛提取溶剂等条件的研究, 确定了最佳标准适用食品中羟甲基糠醛、糠醛、呋喃甲基酮和甲基糠醛的提取条件。

(2) 分离条件研究: 通过比较羟甲基糠醛、糠醛、呋喃甲基酮和甲基糠醛的最大吸收波长, 比较不同色谱柱, 优化梯度程序经多次实验所得液相洗脱梯度为: 流动相 A 为乙

睛，流动相 B 为水；柱温 30 °C；流速 0.6 ml/min；检测波长为 280nm。洗脱梯度如表 1。

(3) 方法线性及检出限：羟甲基糠醛、糠醛、呋喃甲基酮和甲基糠醛在范围内线性关系良好， $R^2$ 均在 0.9999 以上。本文件中液态产品为 15g 时，羟甲基糠醛定量限为 1.6  $\mu\text{g}/100\text{g}$ ，糠醛定量限为 1.6  $\mu\text{g}/100\text{g}$ ，呋喃甲基酮定量限为 1.6  $\mu\text{g}/100\text{g}$ ，甲基糠醛定量限为 1.6  $\mu\text{g}/100\text{g}$ ；乳基粉状产品为 2.25g 时，羟甲基糠醛定量限为 11.1  $\mu\text{g}/100\text{g}$ ，糠醛定量限为 11.1  $\mu\text{g}/100\text{g}$ ，呋喃甲基酮定量限为 11.1  $\mu\text{g}/100\text{g}$ ，甲基糠醛定量限为 11.1  $\mu\text{g}/100\text{g}$ ；其他类型产品为 1 g，羟甲基糠醛定量限为 25  $\mu\text{g}/100\text{g}$ ，糠醛定量限为 25  $\mu\text{g}/100\text{g}$ ，呋喃甲基酮定量限为 25  $\mu\text{g}/100\text{g}$ ，甲基糠醛定量限为 25  $\mu\text{g}/100\text{g}$ 。

(4) 方法加标回收率：在样品中加入羟甲基糠醛、糠醛、呋喃甲基酮和甲基糠醛，按照试验方法进行处理后液相色谱法测定，平均回收率在 80%~100%之间。

(5) 方法精密度试验：对同一食品样品平行多次进行测定，样品测定结果的 RSD 在 2%以内，说明该方法日内测定结果重复性，精密度较高。

#### 四、标准中涉及专利的情况

本标准不涉及专利问题。

#### 五、预期达到的社会效益、对产业发展的作用等情况

食品中蛋白质的营养质量水平是评价食品质量优劣的重要指标。特别是对于高蛋白质食品如婴幼儿配方食品、儿童食品、老年食品等，其营养质量水平决定了产品的质量水平。乳制品及乳基特膳食品在热加工或高温贮存过程中会发生美拉德反应，产生不同的糠醛化合物，主要为羟甲基糠醛（HMF）、糠醛（F）、呋喃甲基酮（FMC）和甲基糠醛（MF），其含量与热加工程度关系密切。市面上有部分国际国内乳品品牌将高温灭菌的液态奶混在巴氏杀菌鲜牛奶货架出售、误导消费者的现象存在，所以食品中蛋白质营养质量的体外评价对于企业质量控制意义重大。而乳制品及乳基特膳食品最为大健康战略中的健康食品，消费量巨大，而且逐年提升，对于行业有着非常广阔的前景，而对于消费者更是健康的选择，而优质的蛋白营养更是值得保护和提倡，所以评价好蛋白营养质量需要行业进行保驾护航和规范化。

目前所见的几种方法各具优缺点，气相色谱氢火焰离子法的色谱柱耐用性差，花费高，灵敏性差；气质联用色谱法和液质联用色谱法的色谱柱耐用性差，花费高，灵敏性好；本标准的液相色谱紫外法的色谱柱耐用性好，花费低，灵敏度可达要求，可同时定量测定四种物质，且本方法与类似标准方法相比，定量限更低。

六、采用国际标准和国外先进标准的程度，以及与国际、国外同类标准水平的对比情况，或与测试的国外样品、样机的有关数据对比情况。

本标准未采用国际标准。

本标准制定过程中未查到同类国际、国外标准。

本标准制定过程中未测试国外的样品、样机。

七、在标准体系中的位置，与现行相关法律、法规、规章及标准，特别是强制性标准的协调性

本标准与现行相关法律、法规、规章及相关标准协调一致。

八、重大分歧意见的处理经过和依据

无。

九、标准性质的建议说明

建议本标准的性质为推荐性行业标准。

建议本标准通过审核、批准发布之后，由相关部门组织力量对本标准进行宣贯，在行业内进行推广。

十、贯彻标准的要求和措施建议

建议本标准自发布 6 个月之后开始实施。

十一、废止现行相关标准的建议 废止现行相关标准的建议

无。

十二、其它应予说明的事项 其它应予说明的事项

无

2022 年 8 月 10 日

## 附件一 食品中羟甲基糠醛、糠醛、呋喃甲基酮和甲基糠醛含量的测定

### 方法条件优化

#### 1、研究背景

食品中蛋白质的营养质量水平是评价食品质量优劣的重要指标。特别是对于高蛋白质食品如婴幼儿配方食品、儿童食品、老年食品等，其营养质量水平决定了产品的质量水平。食品中蛋白质营养质量的体外评价对于企业质量控制和产品市场监督管理具有重要意义。

评估高蛋白食品，如乳制品的新鲜度指标包括生物指标（乳铁蛋白活性、免疫球蛋白、磷酸酯酶、乳过氧化物酶、溶菌酶、纤溶酶等的活性）和化学指标（糠氨酸、乳果糖、糠醛类物质、乳源生物活性肽、不饱和脂肪酸等）。乳制品及乳基特膳食品在热加工或高温贮存过程中会发生美拉德反应，产生不同的糠醛化合物，主要为羟甲基糠醛（HMF）、糠醛（F）、呋喃甲基酮（FMC）和甲基糠醛（MF），其含量与热加工程度关系密切。

有关乳制品研究中，报道较多的糠醛类化合物为羟甲基糠醛和糠醛，呋喃甲基酮和甲基糠醛主要在过度热加工的乳制品中存在，但业内对该类风险的分析 and 认知尚待加强。市面上有部分国际国内乳品品牌将高温灭菌的液态奶混在巴氏杀菌鲜牛奶货架出售、误导消费者的现象存在。现有结合糠氨酸和乳果糖含量识别掺杂复原乳的标准，但尚未有识别巴氏杀菌鲜奶和高温灭菌奶的方法标准。

#### 2 样品测定方法优化

##### 2.1 色谱柱的选择

选择四款反相色谱柱 Agilent proshell EC-C18 (3.0 × 50mm, 2.7 μm), Phenomenex Luna C18 (2.0 × 150mm, 5 μm), Agilent Eclipse C18 (4.6 × 150mm, 5 μm), Waters Atlantis T3(3.0 mm×150 mm, 3 μm) 和一款亲水色谱柱 Click XIon (4.6 × 150mm, 5 μm)开展糠醛类化合物标准品和乳制品实际样品的分离分析方法建立。尽管尝试了流动相中添加缓冲盐以及降低初始梯度洗脱能力等方法，糠醛类化合物在亲水色谱柱上仍无法保留。糠醛类化合物在四款反相色谱柱保留均较好，在应用于实际乳制品中的糠醛类化合物分离分析时，Atlantis T3 呈现出最优异的分​​离效果，故最终选择反相柱 Waters Atlantis T3 (3.0 mm×150 mm, 3 μm)。见图 1

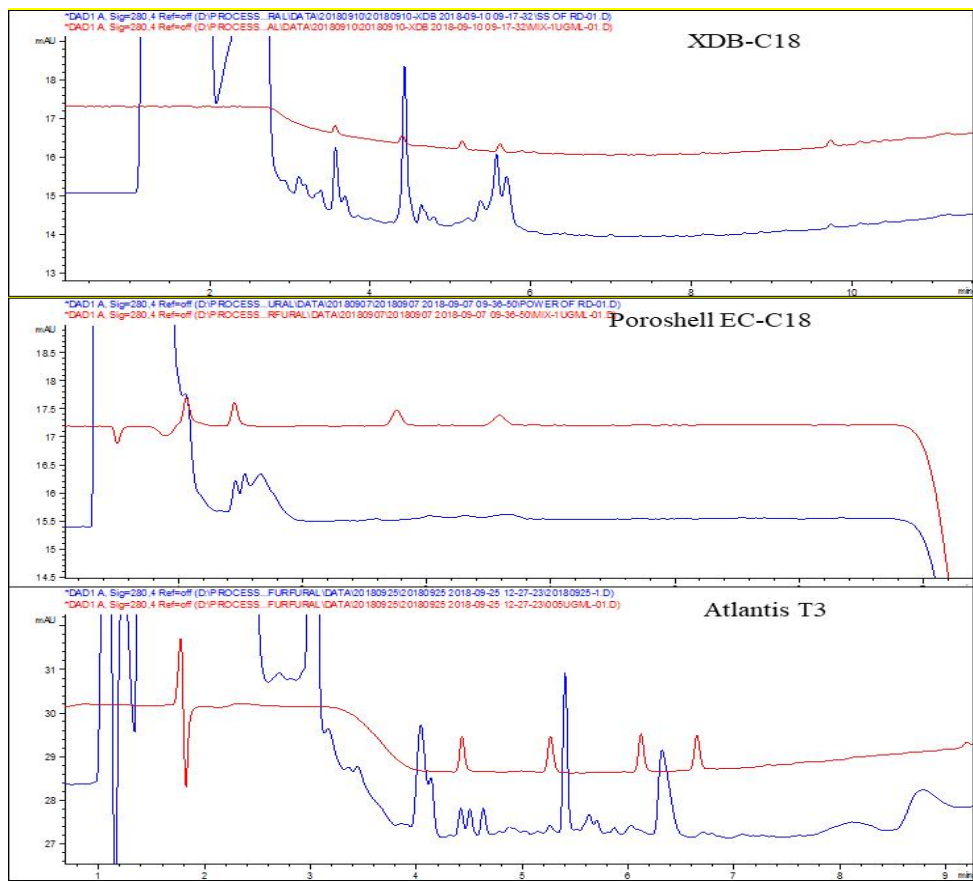


图 1 糠醛类化合物色谱图

## 2.2 检测波长的选择

检测波长分别考察 220 nm, 254 nm 和 280 nm 三种参数, 由于糠醛类化合物分子量较小, 共轭双键明显, 280 nm 波长在保证糠醛类化合物响应的同时减少低波长干扰物质吸收。

柱温分别考察 20℃、30℃和 40℃三种参数, 30℃下乳制品实际样品呈现较好的分离效果见图 2。

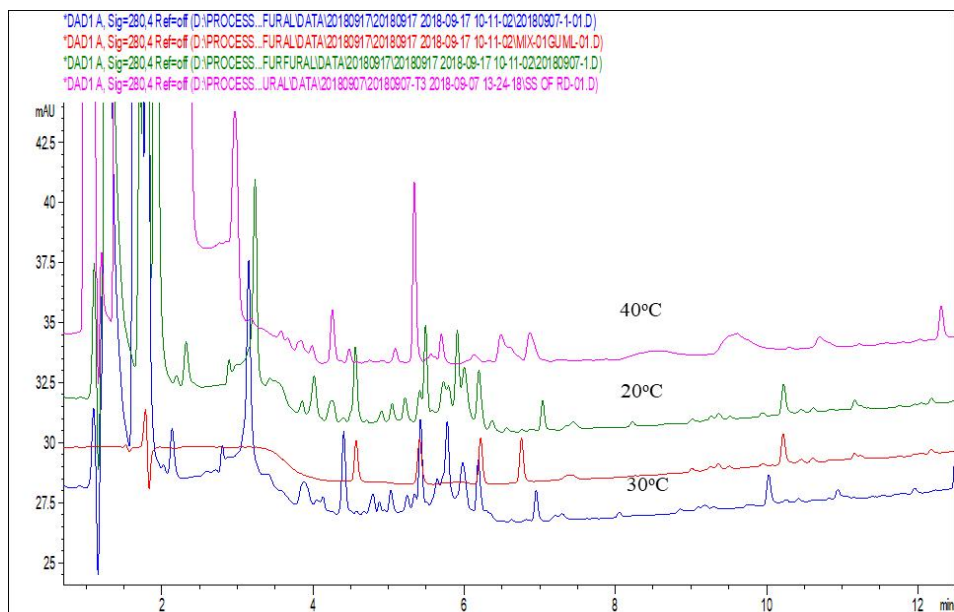




图 2 不同温度糠醛类化合物色谱图

### 2.3 洗脱液及 pH 的选择

糠醛类化合物作为一类呋喃环结构物质，不呈现明显的强 pH 或弱 pH 值。选择反相液相色谱常用的三种洗脱溶液，分别为乙腈和水，添加 0.1%甲酸的乙腈和添加 0.1%甲酸的水，添加 0.05%三氟乙酸的乙腈和添加 0.05%三氟乙酸的水。三种洗脱液在相同的梯度条件下，对乳制品实际样品分离效果相似，最终选定洗脱液为乙腈和水，见图 3。

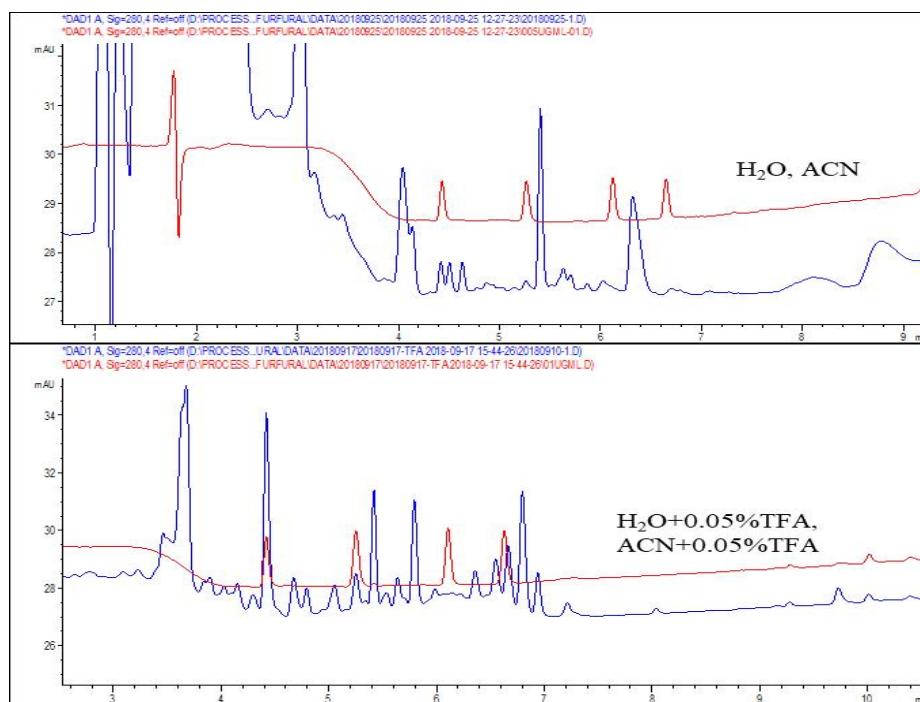


图 3 不同温度糠醛类化合物色谱图

### 2.4 洗脱梯度的选择

首先对比等度洗脱条件和梯度洗脱条件下糠醛类化合物标准品和乳制品实际样品的分离效果，梯度洗脱条件呈现更优异的分​​离效果。梯度条件分为选定为：0-10.0 min, 5%B-95%B， 10.0-12.0 min, 95%B-95%B 和 0-20.0 min, 5%B-95%B, 20.0-22.0 min, 95%B-95%B。最终选定 22 min 的梯度条件完成乳制品实际样品的检测。

### 2.5 方法线性范围

取混合物对照品溶液，按照选定方法进行测定，以各组分定量色谱峰的峰面积 (y) 对质量浓度 (x) 绘制曲线，得回归方程和相关系数 ( $R^2$ )，见表 1。结果表明，四种化合物的线性关系在线性范围内良好， $R^2$  均在 0.9999 以上。

表 1 羟甲基糠醛、糠醛、呋喃甲基酮和甲基糠醛的标准曲线

浓度	0.05	0.1	0.25	0.5	1	10
----	------	-----	------	-----	---	----

羟甲基糠醛	(mg/L)						
	峰面积	2.9	5.9	15.4	29.8	58.4	589
	标准曲线: $y=58.885x+0.1105$				相关系数 0.9999		
糠醛	浓度 (mg/L)	0.05	0.1	0.25	0.5	1	10
	峰面积	3.8	7.2	18.3	36.2	71.3	719.5
	标准曲线: $y=71.942x+0.0321$				相关系数 0.9999		
呋喃甲基酮	浓度 (mg/L)	0.05	0.1	0.25	0.5	1	10
	峰面积	2.9	5.6	13.9	28.0	55.0	554.5
	标准曲线: $y=55.445x+0.0172$				相关系数 0.9999		
甲基糠醛	浓度 (mg/L)	0.05	0.1	0.25	0.5	1	10
	峰面积	3.0	6.0	15.3	29.6	58.5	589.0
	标准曲线: $y=58.885x+0.1107$				相关系数 0.9999		

## 2.6 方法检出限、定量限

液态产品称取量为 15g 时, 羟甲基糠醛定量限为 1.6  $\mu\text{g}/100\text{g}$ , 糠醛定量限为 1.6  $\mu\text{g}/100\text{g}$ , 呋喃甲基酮定量限为 1.6  $\mu\text{g}/100\text{g}$ , 甲基糠醛定量限为 1.6  $\mu\text{g}/100\text{g}$ ; 羟甲基糠醛检出限为 0.5 $\mu\text{g}/100\text{g}$ , 糠醛检出限为 0.5  $\mu\text{g}/100\text{g}$ , 呋喃甲基酮检出限为 0.5 $\mu\text{g}/100\text{g}$ , 甲基糠醛检出限为 0.5  $\mu\text{g}/100\text{g}$ 。

乳基粉状产品称取量为 2.25g 时, 羟甲基糠醛定量限为 11.1  $\mu\text{g}/100\text{g}$ , 糠醛定量限为 11.1  $\mu\text{g}/100\text{g}$ , 呋喃甲基酮定量限为 11.1  $\mu\text{g}/100\text{g}$ , 甲基糠醛定量限为 11.1  $\mu\text{g}/100\text{g}$ ; 羟甲基糠醛检出限为 3.4 $\mu\text{g}/100\text{g}$ , 糠醛检出限为 3.4  $\mu\text{g}/100\text{g}$ , 呋喃甲基酮检出限为 3.4 $\mu\text{g}/100\text{g}$ , 甲基糠醛检出限为 3.4  $\mu\text{g}/100\text{g}$ 。

其他类型产品称取量为 1 g 时, 羟甲基糠醛定量限为 25  $\mu\text{g}/100\text{g}$ , 糠醛定量限为 25  $\mu\text{g}/100\text{g}$ , 呋喃甲基酮定量限为 25  $\mu\text{g}/100\text{g}$ , 甲基糠醛定量限为 25  $\mu\text{g}/100\text{g}$ 。羟甲基糠醛检出限为 7.6 $\mu\text{g}/100\text{g}$ , 糠醛检出限为 7.6 $\mu\text{g}/100\text{g}$ , 呋喃甲基酮检出限为 7.6 $\mu\text{g}/100\text{g}$ , 甲基糠醛检出限为 7.6  $\mu\text{g}/100\text{g}$ 。

## 2.7 样品加标回收率测定

采用加标回收实验对方法的准确度进行评价, 向已知含量的样品中加入羟甲基糠醛、糠醛、呋喃甲基酮和甲基糠醛标准液, 加标样品预处理后, 进高效液相色谱仪进行测定, 重复 2 次, 计算加标回收率。

加标回收率见表 2~表 5:

表 2 样品 2 中羟甲基糠醛、糠醛、呋喃甲基酮和甲基糠醛加标回收率

化合物	样品含量 (mg/100 g)	样品平均含量 (mg/100 g)	加标浓度 (mg/100 g)	样品加标 测定含量 (mg/100 g)	回收率 (%)	平均回收率 (%)
羟甲基糠醛	0.014	0.014	0.031	0.037	74.2%	80.7%
	0.014			0.041	87.1%	
糠醛	0.005	0.005	0.038	0.035	78.9%	80.3%
	0.005			0.036	81.6%	
呋喃甲基酮	0	0	0.037	0.030	81.1%	81.1%
	0			0.030	81.1%	
甲基糠醛	0	0	0.035	0.031	88.6%	87.2%
	0			0.030	85.7%	

表 3 样品 3 中羟甲基糠醛、糠醛、呋喃甲基酮和甲基糠醛加标回收率

化合物	样品含量 (mg/100 g)	样品平均含量 (mg/100 g)	加标浓度 (mg/100 g)	样品加标 测定含量 (mg/100 g)	回收率 (%)	平均回收率 (%)
羟甲基糠醛	0.401	0.375	0.642	0.889	80.1%	81.0%
	0.348			0.901	81.9%	
糠醛	0.045	0.047	0.941	0.834	83.6%	82.3%
	0.048			0.809	81.0%	
呋喃甲基酮	0	0	0.910	0.736	80.9%	81.4%
	0			0.744	81.8%	
甲基糠醛	0	0	0.801	0.639	80.0%	81.2%
	0			0.659	82.3%	

表 4 样品 4 中羟甲基糠醛、糠醛、呋喃甲基酮和甲基糠醛加标回收率

化合物	样品含量 (mg/100 g)	样品平均含量 (mg/100 g)	加标浓度 (mg/100 g)	样品加标 测定含量 (mg/100 g)	回收率 (%)	平均回收率 (%)
	0.222	0.219	0.469	0.629	87.4%	86.0%

羟甲基糠醛	0.216			0.616	84.6%	
糠醛	0.059	0.059	0.568	0.543	85.2%	83.4%
	0.059			0.522	81.5%	
呋喃甲基酮	0	0	0.574	0.466	81.2%	80.7%
	0			0.460	80.1%	
甲基糠醛	0	0	0.536	0.439	81.9%	80.4%
	0			0.423	78.9%	

表 5 样品 5 中羟甲基糠醛、糠醛、呋喃甲基酮和甲基糠醛加标回收率

化合物	样品含量 (mg/100 g)	样品平均含量 (mg/100 g)	加标浓度 (mg/100 g)	样品加标 测定含量 (mg/100 g)	回收率 (%)	平均回收率 (%)
羟甲基糠醛	7.105	7.810	30.657	28.520	67.6%	82.4%
	8.514			37.566	97.1%	
糠醛	0.104	0.114	37.098	31.245	83.9%	85.9%
	0.123			32.679	87.8%	
呋喃甲基酮	0	0	37.099	29.999	81.1%	85.1%
	0			33.067	89.1%	
甲基糠醛	0	0	34.799	32.789	94.2%	100.9%
	0			37.434	107.6%	

## 2.8 方法的重复性

浓度为 0.01  $\mu\text{g/mL}$  混合物对照品，按照方法进行测定，连续测定 6 次，计算 HMF、F、FMC、MF 四种化合物色谱峰面积和保留时间的相对标准偏差（relative standard deviation, RSD），见表 6，均在 2%以内，表明方法精密度良好。

表 6 液相方法预验证数据

	HMF	F	FMC	MF
专属性	OK	OK	OK	OK
定量限	16.75 <sup>a</sup>	21.00	22.00	18.00
精密度 (峰面积)	5.97 $\pm$ 0.05	7.83 $\pm$ 0.10	7.27 $\pm$ 0.14	7.07 $\pm$ 0.11
	0.87%	1.32%	1.88%	1.56%

精密度 (保留时间)	4.42±0.00 0.09%	5.25±0.00 0.05%	6.08±0.04 0.64%	6.62±0.00 0.04%
---------------	--------------------	--------------------	--------------------	--------------------

## 2.9 实验间方法验证

本方法经过光明乳业股份有限公司、中国食品发酵工业研究院、南宁海关技术中心、黑龙江飞鹤乳业有限公司、中粮营养健康研究院有限公司，北京电子职业学院等根据实验研究的前处理方法，比对实验结果如下，样品的的方法间 RSD 小于 15%。

表 7. 羟甲基糠醛对比实验结果 (mg/100g)

样品编号	Lab1		Lab2		Lab3		Lab4		Lab5		平均值	RSD%
SCFF-RHP-01	0.037	0.041	0.049	0.051	0.052	0.049	0.053	0.048	0.057	0.057	0.0494	12.88
SCFF-RHP-02	0.889	0.901	0.885	0.912	0.835	0.834	0.867	0.894	0.899	0.914	0.883	3.27
SCFF-RHP-03	0.629	0.543	0.691	0.703	0.693	0.649	0.679	0.683	0.81	0.822	0.6902	11.75
SCFF-RHP-04	28.52	37.566	39.83	40.234	39.83	40.234	40.237	41.943	38.768	39.457	38.6619	9.66

注：实验室的顺序随机排列。

表 8. 糠醛对比实验结果 (mg/100g)

样品编号	Lab1		Lab2		Lab3		Lab4		Lab5		平均值	RSD%
SCFF-RHP-01	0.035	0.036	0.032	0.031	0.039	0.034	0.034	0.036	0.038	0.036	0.0351	6.68
SCFF-RHP-02	0.834	0.809	0.702	0.693	0.718	0.682	0.604	0.652	0.663	0.667	0.7024	9.49
SCFF-RHP-03	0.543	0.522	0.497	0.489	0.497	0.489	0.519	0.534	0.533	0.527	0.515	3.72
SCFF-RHP-04	31.245	21.679	34.153	32.398	34.153	32.398	35.234	34.697	31.439	31.514	31.891	11.51

注：实验室的顺序随机排列。

表 9. 呋喃甲基酮对比实验结果 (mg/100g)

样品编号	Lab1		Lab2		Lab3		Lab4		Lab5		平均值	RSD%
SCFF-RHP-01	0.03	0.03	0.032	0.031	0.031	0.028	0.03	0.029	0.036	0.037	0.0314	8.80
SCFF-RHP-02	0.466	0.46	0.635	0.651	0.596	0.543	0.594	0.586	0.652	0.663	0.5846	12.00
SCFF-RHP-03	0.466	0.46	0.476	0.492	0.483	0.493	0.472	0.468	0.521	0.516	0.4847	4.07
SCFF-RHP-04	29.999	33.067	35.52	36.812	35.52	36.812	32.468	36.197	31.642	32.087	34.0124	6.81

注：实验室的顺序随机排列。

表 10. 甲基糠醛对比实验结果 (mg/100g)

样品编号	Lab1		Lab2		Lab3		Lab4		Lab5		平均值	RSD%
SCFF-RHP-01	0.031	0.03	0.031	0.03	0.029	0.027	0.029	0.028	0.035	0.032	0.0302	7.07
SCFF-RHP-02	0.639	0.659	0.513	0.525	0.598	0.601	0.614	0.598	0.656	0.669	0.6072	8.36
SCFF-RHP-03	0.439	0.423	0.383	0.394	0.451	0.444	0.423	0.406	0.484	0.482	0.4329	7.46
SCFF-RHP-04	32.789	37.434	32.031	32.569	32.035	32.135	32.106	32.946	29.881	29.965	32.3891	6.06

注：实验室的顺序随机排列。