团 体 标 准

水果制品中5种糠醛类物质的测定
液相色谱法

编 制 说 明

编制单位：江苏省农业科学院

农产品质量安全与营养研究所

编 制 人：梁颖，高庆超，李亚辉等

编制时间：2023年5月

目　录

一、必要性及意义.....1

二、标准编制过程.....2

三、标准制定原则.....4

四、主要技术指标的确定依据.....4

五、与现有法律法规和技术规程的一致性.....11

六、标准基本评价.....12

水果制品中5种糠醛类物质的测定　液相色谱法

一、必要性及意义

糠醛类物质是含氧的呋喃类化合物，其中包括5-羟甲基糠醛、糠醛、呋喃酮、2-乙酰呋喃、5-甲基糠醛等。糠醛类物质在食品加工过程中由葡萄糖、果糖等单糖化合物经过焦糖化反应和美拉德反应产生，具有一定的增香调色功能，但当此类物质达到一定剂量时会对人体产生危害，主要表现为对眼黏膜、上呼吸道黏膜和皮肤等产生刺激作用，对肝脏、肾脏、心脏等器官产生损伤。因此，有学者将其归为食品在热处理、发酵等加工过程中形成的一类内源性毒素，广泛存在于水果制品、蜂蜜、啤酒、醋、奶制品、饮料等食品中。

水果制品如果汁和果泥等是一类群体消费产品，由于其含糖量较高，在加工和储存过程中易发生焦糖化反应和美拉德反应，生成潜在的糠醛类物质。目前，国际上对水果制品中糠醛类物质含量无统一的限量规定，欧盟果蔬汁饮料工业协会（AIJN）规定果汁中5-羟甲基糠醛的最大残留限量为20 mg/L；国际果汁加工联合会（IFFJP）建议果汁中5-羟甲基糠醛的最大残留限量为5-10 mg/L，浓缩果汁中最大残留限量为25 mg/L。我国GB/T 18796-2012规定5-羟甲基糠醛在蜂蜜中的含量不得超过40 mg/kg，但没有对水果制品中糠醛类物质含量限制进行规定，然而水果制品含糖量高，并且有些呈酸性，更易促使糠醛类物质的产生，储藏时间长也会导致糠醛类含量相对较高。

糠醛类物质常规理化方法难以检测，目前报道的关于糠醛类物质的测定方法主要有紫外分光光度法（UV）、液相色谱法（LC）、液相色谱串联质谱法（LC-MS）、气相色谱法（GC）、气相色谱串联质谱法（GC-MS）等。UV法易受基质干扰，准确度和灵敏度较低，

LC-MS 法、GC 法、GC-MS 法会因进样过程中温度过高而导致样品物质发生变化，影响检测结果准确性，而 LC 法检测糠醛类物质，具有简便易操作、灵敏度高、分离效果好、样品处理简单、选择性高等优点。

目前关于糠醛类物质的检测标准有国家标准 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》，行业标准 NY/T 1332-2007《乳与乳制品中 5-羟甲基糠醛含量的测定　高效液相色谱法》、SN/T 1859-2007《饮料中棒曲霉素和 5-羟甲基糠醛的测定方法　液相色谱-质谱法和气相色谱-质谱法》、SN/T 4675.8-2016《出口葡萄酒中 5-羟甲基糠醛的测定　液相色谱法》，地方标准 DB61/T 968-2015《果汁及果脯糖浆中羟甲基糠醛的测定方法　液相色谱法》。

已有国家标准、行业标准以及地方标准均是针对 5-羟甲基糠醛单一糠醛类物质的检测，尚无针对多种糠醛类物质的检测方法。为更加全面掌握水果制品中糠醛类物质存在情况，建立同时检测多种糠醛类物质的检测方法是非常必要的。基于此，本团队拟根据以上标准及实验室内建立的水果制品中 5 种糠醛类物质检测方法，编制团体标准《水果制品中 5 种糠醛类物质的测定　液相色谱法》。

二、标准编制过程

（一）国内相关材料收集

标准编制小组前期认真研读了我国和我省食品安全与产品标准相关的法律法规以及管理办法等，包括《中华人民共和国标准化法》《中华人民共和国食品安全法》《中华人民共和国食品安全法实施条例》、《食品安全国家标准管理办法》、《团体标准管理规定》、《江苏省

标准监督管理办法》《江苏省团体标准管理办法（试行）》等，明确了团体标准编制、申报与管理等情况，同时对 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》和 GB/T 20001.4-2015 《标准编写规则 第 4 部分：试验方法标准》进行研读与掌握，为本标准的编制与实施奠定基础。

标准编制小组调研并搜集了我国有关糠醛类物质检测的各种标准，包括国家标准 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》，行业标准 NY/T 1332-2007《乳与乳制品中 5-羟甲基糠醛含量的测定　高效液相色谱法》、SN/T 1859-2007《饮料中棒曲霉素和 5-羟甲基糠醛的测定方法　液相色谱-质谱法和气相色谱-质谱法》、SN/T 4675.8-2016《出口葡萄酒中 5-羟甲基糠醛的测定　液相色谱法》，地方标准 DB61/T 968-2015《果汁及果脯糖浆中羟甲基糠醛的测定方法　液相色谱法》等，对这些标准中各种参数进行了对比和分析。在对各个标准中方法融会贯通的基础上，于实验室基于液相色谱-紫外检测器建立了果汁和果泥中 5 种糠醛类物质的检测方法，并对其检出限、定量限、回收率、精密度进行了验证。

（二）标准编制

标准编制小组在查阅、明确国内相关标准情况的基础上，开始标准编制工作。由于本标准属于试验方法标准，所以标准的编制以 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》和 GB/T 20001.4-2015 《标准编写规则 第 4 部分：试验方法标准》作为架构编写主要资料。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》，行业标准 NY/T 1332-2007《乳与乳制品中 5-羟甲基糠醛含量的测定　高效液相

色谱法》、SN/T 4675.8-2016《出口葡萄酒中 5-羟甲基糠醛的测定　液相色谱法》，地方标准 DB61/T 968-2015《果汁及果脯糖浆中羟甲基糠醛的测定方法　液相色谱法》中的规范内容与技术要点为本标准编制的主要参考。

三、标准制定原则

《水果制品中 5 种糠醛类物质的测定　液相色谱法》标准编制过程遵循科学合理、依法高效、便捷可行的原则，力求做到规范、统一。

首先，在标准制定过程中，遵循政策协调统一原则。严格遵循国家有关方针、政策、法规和规章，严格按照强制性国家标准和行业标准执行，与同体系标准及相关的各种基础标准、规范、指南等相衔接；

其次，主要技术指标的确定是以各类水果制品中糠醛类物质测定方法与规范等标准为宗旨，以前期建立的果汁和果泥中糠醛类物质的液相色谱检测方法，以及糠醛类物质测定的相关国家标准、行业标准、地方标准为主要依据。

第三，广泛征求监管单位、科研院校、生产企业的意见，并与安全、营养、检测等方面的专家进行深入交流和研讨，进行适当的修改，使标准既保持技术上的科学性和合理性，又具有应用上的适用性和可操作性。

四、主要技术指标的确定依据

1. 范围

本文件规定了水果制品中 5 种糠醛类物质检测的试样处理和液相色谱测定方法。

本文件适用于水果罐头、醋（油）或盐渍水果、果酱（泥）、蜜饯凉果（包括果丹皮）、发酵的水果制品、煮熟的或油炸的水果、水

果甜品以及其他水果制品中5-羟甲基糠醛、糠醛、呋喃酮、2-乙酰呋喃和5-甲基糠醛单种或多种糠醛类物质的测定。

确定依据：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》的规定编写，首先明确本标准的范围与适用对象。水果制品范围选自《GB 2762 食品安全国家标准 食品中污染物限量》“附录A 食品类别（名称）说明”，水果及其制品中水果制品的范围，包括水果罐头、醋（油）或盐渍水果、果酱（泥）、蜜饯凉果（包括果丹皮）、发酵的水果制品、煮熟的或油炸的水果、水果甜品以及其他水果制品

2. 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅注日期的版本适用于本文件。凡是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

确定依据：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》的规定编写，对本标准编制过程中引用的规范性文件进行标注。

3. 原理

试样中的糠醛类物质，经甲醇提取，反相色谱柱分离，液相色谱仪紫外检测器测定，保留时间定性，外标法定量。

确定依据：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》的规定编写，明确本标准中试验方法的原理，主要参考标准有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》、SN/T 4675.8-2016《出口葡萄酒中5-羟甲基糠醛的测定 液相色谱法》、T/SATA 034-2022《调味品中 5-

羟甲基糠醛的测定 高效液相色谱法》。

4. 试剂和材料

以下所用试剂，除特殊注明外，均为分析纯，水为符合 GB/T 6682 规定的一级水。

4.1 甲醇（CH_3OH）：色谱纯

4.2 甲酸（CH_2O_2）：色谱纯

4.3 甲酸水溶液（0.1%）：量取 1 mL 甲酸，加入到 1000 mL 的容量瓶中，用水定容至刻度。

4.4 标准品：5-羟甲基糠醛（5-Hydroxymethylfurfural，$C_6H_6O_3$，CAS: 67-47-0）；糠醛（Furfural，$C_5H_4O_2$，CAS: 98-01-1）；呋喃酮（Furaneol，$C_6H_8O_3$，CAS: 3658-77-3）；2-乙酰呋喃（2-Acetylfuran，$C_6H_6O_2$，CAS: 1192-62-7）；5-甲基糠醛（5-Methylfurfural，$C_6H_6O_2$，CAS: 620-02-0）；纯度≥98%。

4.5 标准储备液：分别准确称取 5-羟甲基糠醛、糠醛、呋喃酮、2-乙酰呋喃、5-甲基糠醛标准品 10 mg（精确至 0.1 mg）于 10 mL 容量瓶中，用甲醇溶解并定容，配制成浓度为 1000 mg/L 的标准储备液，置于 4 ℃下保存，有效期 2 个月。

4.6 混合标准工作液：分别量取不同体积的糠醛类物质标准储备液（4.5）于 10 mL 容量瓶中，用甲醇稀释至刻度，配制成浓度分别为 0.1、0.2、0.5、1、2、5、10、20、50、100 mg/L 的混合标准工作液。现配现用。

4.7 滤膜：0.45 μm 有机相滤膜。

确定依据：以实验室优化建立的果汁和果泥样品中 5 种糠醛类物质的试剂和材料为基础，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》、NY/T 1332-2007《乳与乳制

品中5-羟甲基糠醛含量的测定 高效液相色谱法》、SN/T 4675.8-2016《出口葡萄酒中5-羟甲基糠醛的测定 液相色谱法》中的格式要求进行编写。

5. 仪器和设备

5.1 液相色谱仪：配有紫外检测器。

5.2 分析天平：感量0.1 mg 感量0.1 mg和感量0.01 g。

5.3 超声波清洗器：400W，40KHz。

5.4 均质器

5.5 涡旋振荡器。

5.6 离心机。

5.7 氮吹仪。

确定依据：以本实验室建立的水果制品中糠醛类物质测定方法中所需仪器设备为基础，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》、T/SATA 034-2022《调味品中 5-羟甲基糠醛的测定 高效液相色谱法》中仪器和设备的格式要求进行编写。

6. 试样制备与保存

6.1 试样制备

将所取样品缩分出1 kg，固体样品切碎后经均质器均质混匀，液体样品经涡旋振荡器混匀，均分为两份，装入洁净容器内，作为试样密封并标明标记。

6.2 试样保存

将试样于-18 ℃以下保存。

在抽样和制样的操作过程中，应防止样品受到污染或发生糠醛类物质含量的变化。

确定依据：以本实验室建立的水果制品中糠醛类物质测定方法中试样制备与保存具体方法为基础，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》、T/SATA 034-2022《调味品中 5-羟甲基糠醛的测定 高效液相色谱法》中试样制备与保存的格式要求进行编写。

7. 测定步骤

7.1 提取及净化

称取试样 5.0 g（精确至 0.01 g）于 50 mL 具塞离心管中，加入 15 mL 甲醇，涡旋混匀，超声提取 20 min，10000 r/min 离心 10 min，取上清液 10 mL 于 15 mL 带刻度试管中，氮吹至近干，再用甲醇溶解并定容至 2 mL，0.45 μm 滤膜过滤，供液相色谱仪测定。

确定依据：以实验室内果汁和果泥样品实际前处理操作进行编写。格式及表述方式参照 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》和 T/SATA 034-2022《调味品中 5-羟甲基糠醛的测定 高效液相色谱法》的规定。

7.2 测定

7.2.1 液相色谱参考条件

色谱柱：C_{18} 柱，4.6×250 mm, 粒径 5 μm，或相当者。

流动相： 0.1%甲酸水+甲醇，梯度洗脱条件见表 1。

流速：1 mL/min。

柱温：35 ℃。

进样量：10 μL。

检测波长：285 nm。

表 1 梯度洗脱条件

时间/min	0.1%甲酸水/%	甲醇/%	备注
0	85	15	分析
2	85	15	分析

14.5	65	35	分析
14.6	10	90	洗柱
17.00	10	90	洗柱
17.01	85	15	平衡
25.00	85	15	平衡

确定依据：以实验室内优化的液相色谱条件参数进行编写。依据此液相色谱条件，能够实现较好的 5 种糠醛类物质的分离效果。格式和表述方式参照 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》中的规定。

7.2.2 标准曲线绘制

取不同浓度的混合标准工作液，供液相色谱仪测定，以测得的峰面积为纵坐标，对应的混合标准工作液浓度为横坐标，绘制标准曲线，求回归方程和相关系数。5 种糠醛类物质标准溶液色谱图参见附录 A 中图 A.1。

确定依据：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》的格式进行编写。

7.2.3 液相色谱测定

按照保留时间进行定性，样品与标准品保留时间的相对偏差不大于 2%。待测样液中糠醛类物质的响应值应在标准曲线线性范围内，超过线性范围则应稀释后再进样分析，外标法定量。

确定依据：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》的格式进行编写。

7.2.4 空白试验

不加试样的空白试验应采用与试样测定完全相同的试剂、设备和步骤进行。

确定依据：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》和 NY/T 1332-2007《乳与乳制品中 5-

羟甲基糠醛含量的测定 高效液相色谱法》的格式进行编写。

8. 结果计算

试样中糠醛类物质的含量按式（1）进行计算：

$$X = \frac{c}{D} \times \frac{V}{m} \times \frac{1000}{1000} \qquad \text{……（1）}$$

式中：

X —— 试样中糠醛类物质的含量，单位为毫克每千克（mg/kg）；

c —— 从标准曲线上得到的被测组分的浓度，单位为毫克每升（mg/L）；

D —— 浓缩倍数，5 倍；

V —— 样液最终定容体积，单位为毫升（mL）；

m —— 试样质量，单位为克（g）。

注：计算结果应扣除空白值，测定结果用平行测定的算术平均值表示，保留两位有效数字。

确定依据：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》的格式，以及实际操作中试液浓缩情况进行编写。

9. 检出限、定量限、回收率和精密度

本方法中糠醛类物质的检出限、定量限、回收率和精密度数据参见附录 B 中表 B.1。

确定依据：按照本标准内试样处理和液相色谱测定方法，对混合标准工作液逐级稀释，按 3 倍信噪比 S/N 计算各糠醛类物质的 LOD，当信噪比 S/N 为 3 时，对应糠醛类物质浓度即为 LOD，按 10 倍信噪比 S/N 计算 LOQ，当信噪比 S/N 为 10 时，对应糠醛类物质浓度即为 LOQ。为验证方法的稳定性以及准确度。于标准编制小组单位内不同实验室间开展水果制品中 5 种糠醛类物质的测定，以苹果泥为对象，

每个实验室内于样品中分别添 1.00、5.00、50.00 mg/kg 的混合标准工作液，每个水平重复 5 次，同时设空白对照，进行提取净化及测定。计算添加回收率和实验室内以及实验室间相对标准偏差。回收率为实际检出糠醛类物质浓度与添加糠醛类物质浓度的百分比。具体数据如下。本实验建立的水果制品中糠醛类物质的测定方法满足化学物质检测方法的要求。

表 B.1　5 种糠醛类物质的检出限、定量限、回收率和精密度实验数据（苹果泥样品）

糠醛类物质	检出限 mg/kg	定量限 mg/kg	添加水平 mg/kg	平均回收率 %	实验室内 相对标准偏差 %	实验室间 相对标准偏差 %
5-羟甲基糠醛	0.0125	0.15	1	107.6	3.0	7.6
			5	104.0	1.8	5.5
			10	100.5	1.7	4.3
糠醛	0.0125	0.1	1	105.1	3.1	9.8
			5	108.9	2.9	5.0
			10	101.9	1.7	2.3
呋喃酮	0.1	0.2	1	95.8	4.4	7.5
			5	97.7	3.1	6.8
			10	98.5	2.0	4.3
2-乙酰呋喃	0.05	0.075	1	109.7	3.9	8.8
			5	92.7	3.2	7.8
			10	99.0	2.5	5.7
5-甲基糠醛	0.025	0.1	1	100.1	4.5	6.2
			5	99.4	3.4	5.5
			10	99.8	1.7	4.6

五、与现有法律法规和技术规程的一致性

本标准与现有法律法规和技术规程具有较高一致性。

首先，规范的制定根据《中华人民共和国标准化法》《中华人民共和国食品安全法》《中华人民共和国食品安全法实施条例》、《食品安全国家标准管理办法》、《团体标准管理规定》《江苏省标准监督管理办法》《江苏省团体标准管理办法（试行）》等有关规定和要求。

其次，本规范的架构以 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》和 GB/T 20001.4-2015 《标准编写规则 第 4 部分：试验方法标准》为依据。

第三，本规范的具体技术要点和参数以实验室内建立优化的果汁和果泥中 5 种糠醛类物质的液相色谱检测方法参数，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》，行业标准 NY/T 1332-2007《乳与乳制品中 5-羟甲基糠醛含量的测定 高效液相色谱法》、SN/T 4675.8-2016《出口葡萄酒中 5-羟甲基糠醛的测定 液相色谱法》为主要参考。

六、标准基本评价

本标准制定过程中，严格贯彻国家有关方针、政策、法规和规章，严格执行国家标准、行业标准和地方标准，各项技术内容不违背我国目前颁布的相关法律、法规和标准，政策性和协调性较强。标准编制小组收集了大量国内外相关技术资料、标准和法律法规。基于前期大量试验方法标准制定积累的经验，并紧密结合相关国家标准和行业标准的技术要求，对果汁和果泥中糠醛类物质的测定——液相色谱法制定了符合相关行业标准要求的团体标准。本标准具有较强的科学性、适用性。本标准技术内容叙述无误，文字表达准确、简明、易懂，标准结构布局合理，层次划分符合逻辑，规范性强。

《水果制品中 5 种糠醛类物质的测定　液相色谱法》编制小组

2023 年 5 月 10 日