

Untersuchung von Honig  
Bestimmung des Gehaltes an Hydroxymethylfurfural  
Teil 3: Hochleistungs-flüssigchromatographisches Verfahren

**DIN**  
10751-3

ICS 67.180.10

Analysis of honey —  
Determination of the content of hydroxymethylfurfural —  
Part 3: High performance liquid chromatographic method

Analyse du miel —  
Détermination de la teneur en hydroxymethylfurfural —  
Partie 3: Méthode de chromatographie en phase liquide haute performance

## Vorwort

Diese Norm wurde vom Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte, Arbeitsausschuss „Honiguntersuchung“, erarbeitet.

DIN 10751 *Untersuchung von Honig – Bestimmung des Gehaltes an Hydroxymethylfurfural* besteht aus:

- Teil 1: *Photometrisches Verfahren nach Winkler.*
- Teil 2: *Direktphotometrisches Verfahren nach White.*
- Teil 3: *Hochleistungs-flüssigchromatographisches Verfahren.*

Fortsetzung Seite 2 bis 9

## 1 Anwendungsbereich

Diese Norm legt ein Verfahren zur Bestimmung des Gehaltes an Hydroxymethylfurfural (HMF) einschließlich eventuell anderer Substanzen in Honig fest.

ANMERKUNG Dieses Verfahren bietet eine Alternative zu den Verfahren zur Bestimmung des Gehaltes an Hydroxymethylfurfural nach dem photometrischen Verfahren nach Winkler nach DIN 10751-1 und nach dem direktphotometrischen Verfahren nach White nach DIN 10751-2.

## 2 Begriffe

Für die Anwendung dieser Norm gilt der folgende Begriff.

### 2.1

#### Gehalt an Hydroxymethylfurfural

im Sinne dieser Norm der mit Hilfe der nachstehend beschriebenen Hochleistungs-Flüssigchromatographie (HPLC) bestimmte Massenanteil an Hydroxymethylfurfural (HMF), einschließlich eventuell miterfasster anderer Substanzen in Honig

ANMERKUNG Der Massenanteil an HMF wird in Milligramm je Kilogramm Honig angegeben.

## 3 Kurzbeschreibung

Eine 10%ige Probenlösung wird mit Carrezlösung geklärt und gleichzeitig stabilisiert. Die gefilterten Proben werden mittels HPLC auf einer RP-18-Säule getrennt; die Detektion erfolgt über einen UV-Detektor bei 284 nm. Die quantitative Bestimmung wird nach der Methode des externen Standards über die Peakhöhen bzw. Peakflächen von Standard und Probe berechnet. Die Identifizierung erfolgt über einen Vergleich der Retentionszeiten von Standard und Probe.

## 4 Reagenzien

### 4.1 Allgemeines

Es sind analysenreine Reagenzien zu verwenden. Das verwendete Wasser muss destilliert oder mindestens von entsprechender Reinheit sein. Unter Lösung ist eine wässrige Lösung zu verstehen.

**4.2 bidestilliertes Wasser**, geeignet für HPLC

**4.3 Dinatriumhydrogenphosphat-Lösung**,  $c(\text{Na}_2\text{HPO}_4) = 0,01 \text{ mol/l}^{1)}$

**4.4 Methanol**, geeignet für HPLC-Analytik

**4.5 Ortho-Phosphorsäure-Lösung, ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ) = 85 %<sup>2)</sup>**  
**Ortho-Phosphorsäure-Lösung, ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ) = 10 %<sup>2)</sup>**

**4.6 Kaliumhexacyanoferrat(II)-Trihydrat**,  $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ , reinst

**4.7 Zinkacetat-Dihydrat**,  $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

---

1) Stoffmengenkonzentration

2) Volumenanteil

#### 4.8 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd (C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>O<sub>3</sub>)

#### 4.9 Standardlösung für HMF

Es werden 10 mg HMF nach 4.8 in einen 100-ml-Messkolben eingewogen, in Wasser nach 4.2 gelöst und bis zur Eichmarke aufgefüllt. Der Inhalt wird durch Schütteln gemischt.

Der exakte HMF-Gehalt dieser Lösung wird wie folgt ermittelt:

Es werden 5,00 ml dieser Lösung in einen 100-ml-Messkolben pipettiert; der Messkolben wird bis zur Eichmarke mit Wasser nach 4.2 aufgefüllt. Der HMF-Gehalt dieser Lösung wird bei 284 nm gegen Wasser nach 4.2 photometrisch bestimmt. Er wird wie folgt berechnet:

$$\rho_{\text{HMF}} = \frac{E_{284} \cdot M \cdot 1000 \cdot F}{\varepsilon \cdot d} = \frac{E_{284} \cdot 126 \cdot 1000 \cdot 20}{16830 \cdot 1} = \frac{E_{284} \cdot 252}{1,683} \quad (1)$$

Dabei ist

$\rho_{\text{HMF}}$  berechneter exakter Gehalt an HMF, angegeben als Massenkonzentration in Milligramm je Liter, mg/l;

$E_{284}$  Extinktion bei 284 nm;

$\varepsilon$  molarer Extinktionskoeffizient bei 284 nm = 16830;

$d$  Schichtdicke der Küvette (1 cm);

$M$  Molekulargewicht HMF = 126;

$F$  Verdünnungsfaktor = 20.

Die Standardlösung wird eingefroren und kann mehrere Jahre aufbewahrt werden.

#### 4.10 Kalibrierlösung für HMF

Aus der Standardlösung (4.9) werden durch Verdünnen vier bis fünf Lösungen, die zwischen 0,2 µg/ml und 20 µg/ml HMF enthalten, hergestellt.

#### 4.11 Elutionslösung für die HPLC

Die Dinatriumhydrogenphosphat-Lösung nach 4.3 wird mit Phosphorsäure nach 4.5 auf pH = 3,0 eingestellt, wobei die Grobeinstellung mit 85%iger Phosphorsäure nach 4.5 und die Feineinstellung mit 10%iger Phosphorsäure nach 4.5 durchgeführt wird. Es werden 95 Volumenteile dieser Dinatriumhydrogenphosphat-Lösung und 5 Volumenteile Methanol nach 4.4 für das HPLC-Verfahren gemischt.

#### 4.12 Klärreagenz Carrez I

In einem 100-ml-Messkolben werden 15,0 g Kaliumhexacyanoferrat(II)-Trihydrat nach 4.6 in Wasser gelöst und mit Wasser auf 100 ml aufgefüllt.

#### 4.13 Klärreagenz Carrez II

In einem 100-ml-Messkolben werden 30,0 g Zinkacetat-Dihydrat nach 4.7 in Wasser gelöst und mit Wasser auf 100 ml aufgefüllt.