

## 焦糖色素中 4- 甲基咪唑的常规分析及快速分析研究

焦糖色素是在各类食品中广泛应用的食品添加剂，用于将食品着上褐色。焦糖色素可通过加热白糖或葡萄糖等糖类物质制得，但制造过程中有时会生成副产物 4- 甲基咪唑。国际毒理学计划 (NTP) 动物实验结果表明，4- 甲基咪唑有高致癌性，据此，国际癌症研究机构 (IARC) 的专题论文中刊载其为有致癌风险的化合物。<sup>1)</sup> 基于此背景，欧洲和美国对焦糖色素中的 4- 甲基咪唑制定了限量标准，此外，加尼福尼亚州也对其每日最大摄入量设定了限值。<sup>2)</sup>

本文将对使用 “Nexera-i<sup>TM</sup> MT” 分析可乐中的 4- 甲基咪唑的相关实验展开介绍。

K. Nakajima

### ■ 利用 Nexera-i MT 的 HPLC 流路系统分析 4- 甲基咪唑

表 1 为分析条件。图 2 为在可乐原液中加入 50 μg/L 的 4- 甲基咪唑，按上述条件进行分析时的色谱图。按照表 1 的条件，4- 甲基咪唑的色谱峰不受可乐内其他基质成分的影响。

接着，将 4- 甲基咪唑的标准物质溶于超纯水中，配成 5 mg/L 的储备溶液。使用流动相将储备溶液稀释成 5 mg/L、1 mg/L、500 μg/L、100 μg/L、50 μg/L 的标准溶液，绘制标准曲线。在浓度范围内，包括低浓度区域，所得校准曲线线性关系良好， $R^2 > 0.9999$ 。表 2 所示为添加 50 μg/L 4- 甲基咪唑到可乐原液对应的峰的峰面积重复性与添加回收试验结果。

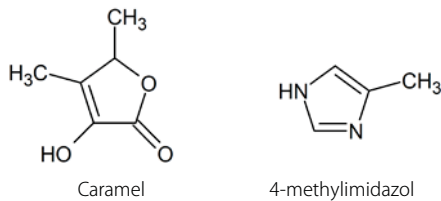


图 1 焦糖色素与 4- 甲基咪唑的化学结构式

表 1 分析条件 (常规分析)

System	: Nexera-i MT
Column	: Shim-pack <sup>TM</sup> VP-ODS (250 mmL × 4.6 mm I.D., 5 μm)
Mobile phase	: A: methanol B: water containing 25 mmol/L (sodium) phosphate pH=2.8 25 mmol/L sodium 1-octanesulfonate A/B=1/9
Flow rate	: 1 mL/min
Column temp.	: 40°C
Injection vol.	: 20 μL
Detection	: PDA (214 nm)

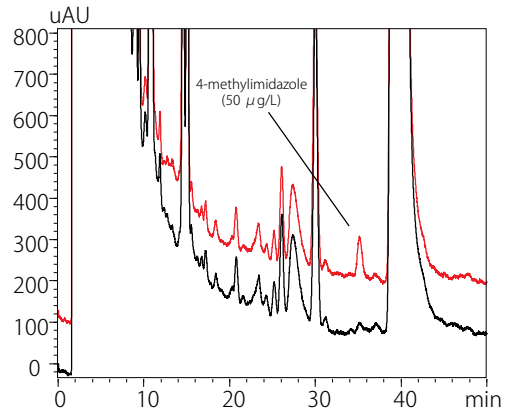


图 2 可乐中的 4- 甲基咪唑的色谱图  
(黑：可乐原液、红：可乐中加入 4- 甲基咪唑后的试样)

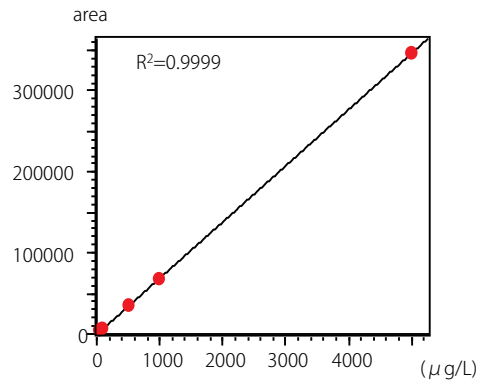


图 3 4- 甲基咪唑标准曲线 (常规分析)  
(5 mg/L, 1 mg/L, 500 μg/L, 100 μg/L, 50 μg/L)

表 2 常规分析条件下 4- 甲基咪唑的分析结果

	4-methylimidazole (50 μg/L in cola)
%RSD (peak area, n=6)	3.61 %
Spike and Recovery Test	106.8%

## ■利用 Method Transfer 功能建立 4- 甲基咪唑的快速分析方法

岛津“Nexera-i MT”系统拥有 HPLC 和 UHPLC 2 个流路系统，1 台仪器可实现从常规分析条件到快速分析条件的切换。利用这个功能，对表 1 可乐中 4- 甲基咪唑的常规分析条件进行了研究。此外，运用 UHPLC 系统提高 HPLC 系统的分析速度时，需要切换分析条件。利用 LabSolutions™ 搭载的“Method Transfer”功能即可实现到快速分析方法的转换（图 4）。

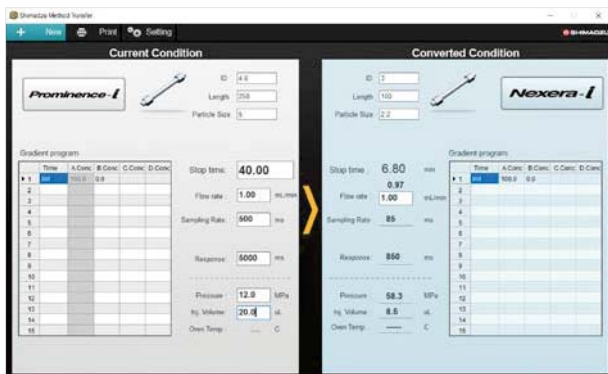


图 4 利用 Method Transfer 功能设定快速分析条件画面

## ■使用 Nexera-i MT 的 UHPLC 流路系统对 4- 甲基咪唑进行快速分析

利用“Method Transfer”功能建立的分析条件如表 3 所示。图 5 为按照表 3 中的条件对可乐中加入的 4- 甲基咪唑进行分析后的色谱图。图 6 为同样分析条件下的标准曲线，线性良好，相关系数  $R^2 > 0.9999$ 。此外，表 4 为重现性试验与添加回收试验结果，表明建立的快速分析条件与常规分析条件对于数据的定性定量分析具有等效性。

表 3 分析条件（快速分析）

System	: Nexera-i MT
Column	: Shim-pack XR-ODS II (100 mmL × 3 mmI.D., 2.2 μm)
Mobile phase	: A: methanol B: water containing 25 mmol/L (sodium) phosphate pH=2.8 25 mmol/L sodium 1-octanesulfonate A/B=1/9
Flow rate	: 1 mL/min
Column temp.	: 40°C
Injection vol.	: 5 μL
Detection	: PDA (214 nm)

- 1) 国际癌症研究机构关于对人类的致癌危害物识别的专题论文，第 101 卷
- 2) 加州第 65 号提案

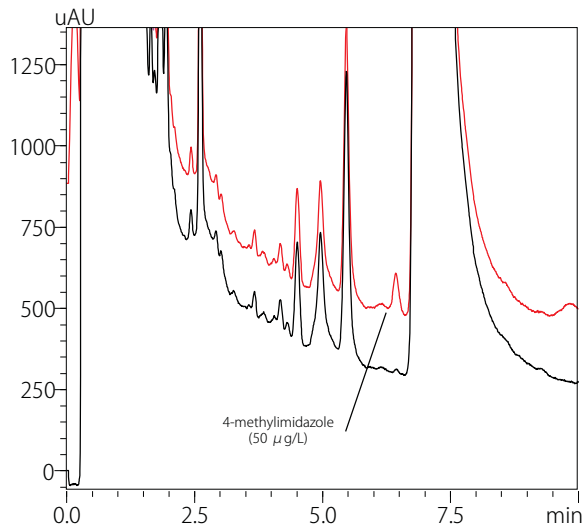


图 5 可乐中的 4- 甲基咪唑分析的色谱图  
(黑：可乐原液、红：可乐中加入 4- 甲基咪唑后的试样)

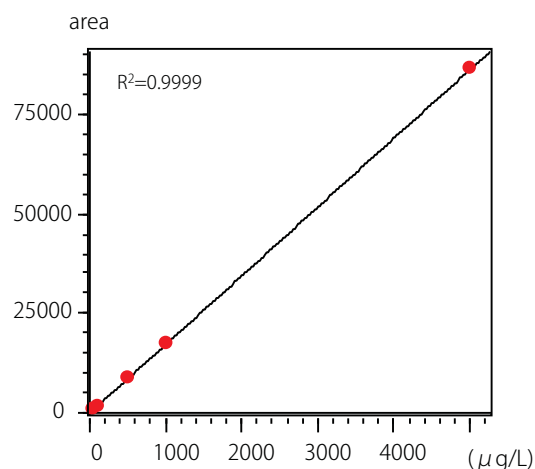


图 6 4- 甲基咪唑标准曲线（快速分析）  
(5 mg/L, 1 mg/L, 500 μg/L, 100 μg/L, 50 μg/L)

表 4 快速分析条件下 4- 甲基咪唑的分析结果

	4-methylimidazole (50 μg/L in cola)
%RSD (peak area, n=6)	2.41%
Spike and Recovery Test	106.8%

## ■结论

使用“Nexera-i MT”进行了可乐中 4- 甲基咪唑的 HPLC 分析。此外，利用 LabSolutions 的 MethodTransfer 功能，可轻松实现由 HPLC 分析条件到 UHPLC 快速分析的条件转化，将原本 1 台装置需要花费 50 分钟的分析缩短至 10 分钟，同时获得与 HPLC 分析等效的定性定量结果。

岛津应用云



Nexera, Shim-pack 和 LabSolutions 是岛津制作所株式会社在日本与其他国家的商标。



岛津企业管理（中国）有限公司  
岛津（香港）有限公司

<http://www.shimadzu.com.cn>

用户服务热线电话：800-810-0439  
400-650-0439

免责声明：

\* 本资料未经许可不得擅自修改、转载、销售；  
\* 本资料中的所有信息仅供参考，不予任何保证。  
如有变动，恕不另行通知。

第一版发行日：2019 年 11 月