

毛细管气相色谱法测定焦糖色素中的 4-甲基咪唑

郭小莉, 陈敏*, 张世湘, 胡锦涛

(中国农业大学食品科学与营养工程学院, 北京 100083)

摘要: 研究了焦糖色素中 4-甲基咪唑含量的气相色谱分析方法。样品在层析柱中用二氯甲烷洗脱, 洗脱液浓缩直接进行气相色谱分析。采用 HP-5 毛细管柱分离样品, NP 检测器测定 4-甲基咪唑的含量。方法的线性范围为 0.025~0.3mg/L; 最低检测浓度为 0.01mg/L; 加样平均回收率为 92.5%~99.0%; 相对标准偏差为 0.6%~1.1%。结果表明: 该方法具有操作简便、快速、准确等优点。

关键词: 毛细管气相色谱法; 4-甲基咪唑; 焦糖色素

Determination of 4-Methylimidazole in Caramel Color by Capillary Gas Chromatography

GUO Xiao-li, CHEN Min*, ZHANG Shi-xiang, HU Jin-rong

(College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agriculture University, Beijing 100083, China)

Abstract: A method for the determination of 4-methylimidazole in caramel color by capillary gas chromatography was studied. The method consisted of a methylene chloride extraction of the sample, followed by concentration and GC analysis of the eluate. The GC analysis was carried out by using HP-5 capillary column(30m × 0.32mm × 0.25 μm film) and nitrogen phosphorus detector. The linear range was 0.025~0.3mg/L and the limit of detection was 0.01mg/L. The average recoveries were 92.5%~99.0% and its relative standard deviations were 0.6%~1.1%. The method was simple, rapid and sensitive.

Key words: capillary gas chromatography; 4-methylimidazole; caramel color

中图分类号: O658

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2005)02-0169-03

焦糖色素是一种世界范围内广泛使用的食品色素, 全世界每年耗量约 20 万吨, 其中 90% 以上用在食品和饮料中。美国约 95% 的焦糖色素用于饮料; 亚洲的焦糖色素主要用于酱油及其它调味品中。上述用途的焦糖色素

以氨(铵)法生产, 在生产过程中会产生一定量的有害物质 4-甲基咪唑, 经动物毒理学实验证明, 4-甲基咪唑对小鼠的 LD₅₀ 值为 370mg/kg 体重^[1], 可致惊厥甚至诱发癫痫症^[2]。因此, 世界卫生组织和我国的国家卫生标准

收稿日期: 2003-11-03

* 通讯作者

基金项目: 国家十五科技攻关计划资助项目(2001BA804A212002-2005)

作者简介: 郭小莉(1978-), 女, 在读硕士, 研究方向为食品分析。

参考文献:

- [1] 史瑞和, 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 北京: 农业出版社, 1980. 229-238.
- [2] 吴辛友, 袁盛检, 翟金铄. 分析试剂的提纯与配置手册[M]. 北京: 冶金工业出版社, 1989. 263-333.
- [3] 吕春绪, 诸松渊. 化验室工作手册[M]. 江苏科学技术出版社, 1995. 65.

- [4] (苏)И Г 兹林, А И 奥布霍夫, 张国珍, 等. 土壤、植物和其它生物样品的光谱分析[M]. 山东科学技术出版社, 1981. 238-239.
- [5] 刘铮, 邹帮基, 朱其清, 等. 微量元素的农业化学[M]. 北京: 农业出版社, 1991. 391-398.

GB8817-2001 均规定氨(铵)法生产的焦糖色素中 4-甲基咪唑的含量不能超过 0.02%。因而快速、准确测定焦糖色素中 4-甲基咪唑的含量,对于质检部门尤为重要。

目前焦糖色素中 4-甲基咪唑的测定方法有薄层层析法^[3], 纸层析法^[4], 填充柱气相色谱法^[5,6], 离子色谱法^[7], 高效液相色谱法^[8], 毛细管等速电泳法^[9]等。用毛细管气相色谱法直接测定焦糖色素中的 4-甲基咪唑,国内外尚无文献报道。本文采用 HP-5 毛细管柱和 NP 检测器,以 2-甲基咪唑为内标物,研究了焦糖色素中 4-甲基咪唑含量的测定方法。

1 材料与分析

1.1 仪器与试剂

Agilent 6890N 气相色谱仪; NP 检测器; Agilent 6890 化学工作站 美国安捷伦公司; 旋转蒸发仪 上海亚荣生化仪器厂。

焦糖色素 上海爱普食品工业有限公司; 4-甲基咪唑 98%, 美国 Acros Organics 公司; 2-甲基咪唑 99%, 美国 Acros Organics 公司; 硅藻土 分析纯; 二氯甲烷 分析纯。

1.2 色谱条件

色谱柱: HP-5(30m × 0.32mm × 0.25μm)石英毛细管柱; 进样口温度 200℃; 检测器 250℃; 柱升温程序: 初始柱温 80℃, 升温速率 30℃/min, 最终温度 200℃, 保持 5min。载气(N₂)流速: 1ml/min(恒流); 氢气(H₂)流速: 2ml/min; 空气(Air)流速: 60ml/min; 尾吹气(N₂)流速: 30ml/min; 分流比 50:1; 进样量 1μl。

1.3 溶液的配制

内标溶液的配制: 准确称取内标物 2-甲基咪唑 0.0503g(精确至 0.0001g), 置于 50ml 容量瓶中, 用二氯甲烷溶解并定容, 充分摇匀, 备用。

标准品储备液的配制: 准确称取 4-甲基咪唑 0.0510g(精确至 0.0001g), 置于 50ml 容量瓶中, 用二氯甲烷溶解并定容, 充分摇匀, 备用。

1.4 样品处理

精确称取搅拌均匀的试样 5.00g, 移入 150ml 聚丙烯烧杯中, 加 20ml 3.0mol NaOH 溶液, 充分混匀, 加硅藻土 15g, 与试样液混合至半干。将混合至半干的硅藻土与试样液的混合物装入具有聚四氟乙烯活塞的层析柱(25 × 250mm)。打开层析柱的活塞, 注入二氯甲烷至充满柱子, 关闭活塞, 静置 5min。打开活塞, 用二氯甲烷洗脱, 收集 250ml 洗脱液。用旋转蒸发仪将洗脱液浓缩至 2~3ml, 将浓缩液移入 10ml 容量瓶, 用二氯甲烷洗涤并定容。

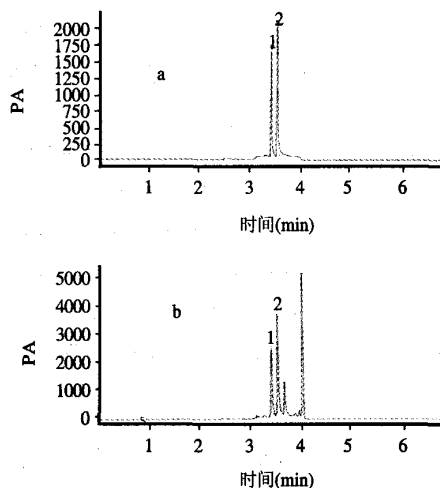
2 结果与讨论

2.1 洗脱剂的选择

所选的洗脱剂的极性应与目标分析物 4-甲基咪唑的极性相似, 才能最大限度地从焦糖色素中提取 4-甲基咪唑。洗脱剂极性太强, 一些不必要的组分将被洗脱出来; 极性太弱, 达不到提取的目的。通过对乙醇、氯仿、石油醚、二氯甲烷进行试验, 最后选用二氯甲烷作洗脱剂。

2.2 色谱柱的选择

以往文献报道的用气相色谱法对 4-甲基咪唑进行测定仅限于填充柱, 采用毛细管气相色谱法直接测定 4-甲基咪唑的方法至今尚未见报道。基于简便、快速、不进行衍生化的要求, 本文分别选择 OV-101, SE-52, HP-225 和 HP-5 不同极性的毛细管柱进行考查, 结果表明: 被测组分在 OV-101, SE-52 上的响应值低, 分离效果差; HP-225 虽然能实现分离, 但峰形拖尾严重; HP-5 不仅响应值高, 出峰快, 而且拖尾现象有所改善, 被测组分与内标物的分离度较好, 因此选用 HP-5 毛细管柱。色谱分离情况如图 1。



1,2- 甲基咪唑(2-methylimidazole); 2,4- 甲基咪唑(4-methylimidazole)

图 1 标准样品(a)及实际样品(b)的色谱图

Fig.1 Chromatograms of the standard(a) and the sample(b)

2.3 校正因子的测定

配制 3 个浓度水平的标准液, 分别加入 1ml 内标液, 每一水平测定 3 次, 求得 4-甲基咪唑的相对质量校正因子, 结果见表 1。由表 1 可以看出, 4-甲基咪唑的相对质量校正因子测得结果的相对标准偏差较小, 均小于 1%, 其平均校正因子为 1.0856。

2.4 线性范围和检出限

精确量取标准品储备液 0.25、0.5、1、2、3ml 分别置于 10ml 容量瓶中, 各精确加入 1ml 内标液, 并用二氯甲烷稀释至刻度, 得系列标准液, 平行测定 3 次,

表1 4-甲基咪唑的相对质量校正因子(n=3)
Table 1 The relative mass calibration factor of 4-methylimidazole(n=3)

标样浓度 Concentration of standard (mg/L)	校正因子 Calibration factor	校正因子平均值 Average	标准偏差 SD (× 10 ⁻²)	相对标准偏差 RSD (%)
0.1	1.081 1.080 1.083	1.081	0.18	0.16
0.2	1.105 1.095 1.100	1.099	0.54	0.49
0.3	1.070 1.076 1.082	1.076	0.61	0.57

取平均值,以4-甲基咪唑与2-甲基咪唑的峰面积之比对其浓度作线性回归分析,得线性回归方程为 $y=8.4476x+0.0843$,相关系数 $r=0.9975$,4-甲基咪唑在0.025~0.3mg/L范围内具有良好的线性关系,按信噪比为3计算最低检测浓度,其最低检测浓度为0.01mg/L。

2.5 方法的回收率和精密度

用标准加入法进行回收率实验,对方法的准确度和精密度进行考察,共添加3个浓度各3个平行样,按样品处理方法进行提取,平行测定3次,结果见表2。

表2 回收率测定(n=3)
Table 2 Determination of recoveries(n=3)

加入量 Added (mg/g)	测得量 Found (mg/g)	回收率 Recovery (%)	标准偏差 SD (× 10 ⁻²)	相对标准偏差 RSD (%)
5.4	5.0	92.5	0.54	0.6
10.3	10.2	99.0	1.0	1.1
20.4	20.1	98.5	0.64	0.7

2.6 重现性测定

取同一焦糖色素样品5份,按照上述方法进行测定,4-甲基咪唑的平均含量为0.2632mg/g(各样品的测定值分别为0.2648、0.2618、0.2675、0.2688、0.2532mg/g),相对标准偏差(RSD)为3.3%,表明此方法具有良好的重现性。

表3 样品中4-甲基咪唑的测定结果(n=3)
Table 3 Determination results of 4-methylimidazole in samples(n=3)

样品编号 Serial number	含量 Found (%)	标准偏差 SD (× 10 ⁻²)	相对标准偏差 RSD (%)
1	0.03	0.28	1.1
2	0.03	0.20	0.8
3	0.04	0.14	0.4

2.7 样品测定

测定了三种样品中4-甲基咪唑的含量,结果见表3。

3 结 论

本文建立的用于测定焦糖色素中4-甲基咪唑含量的气相色谱方法,具有操作快速、简便,定量准确和重现性好的特点,为焦糖色素和食品中4-甲基咪唑的质量检验提供了一种确实可行的分析方法。

参考文献:

[1] Nishie K, Waiss A C, Keyl A C. Toxicity of methylimidazoles [J]. Toxicology and Applied Pharmacology, 1969, 14: 303-307.

[2] Yuan J H, Burka L T. Toxicokinetics of 4-methylimidazole in the male F344 rat [J]. Xenobiotica, 1995, 25: 885-894.

[3] GB8817-2001.

[4] 冯彩群. 蔗糖中4-甲基咪唑检测方法的探讨[J]. 中国卫生检验杂志, 2000, 10(1): 48-49.

[5] 邓贤勇, 张涛. 气相色谱法分析4-甲基咪唑[J]. 化学世界, 1997, (4): 213-215.

[6] Wilks R A, Johnson M W, Shingler A J. An improved method determination of 4-methylimidazole in caramel color [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1977, 25(3): 605-608.

[7] National Board of Health, Drug Standardization Laboratory. Quantitative ion-pair extraction of 4-methylimidazole from caramel color and its determination by reversed phase liquid chromatography [J]. Journal of Chromatography, 1981, 211: 213-221.

[8] Klejdis B, Morsvcova J, Kuban V. Reversed-phase high-performance liquid chromatographic/mass spectrometric method for separation of 4-methylimidazole and 2-acetyl-4-(1,2,3,4-tetrahydroxybutyl)imidazole at pg levels [J]. Analytica Chimica, 2003, 477: 49-58.

[9] Kvasnicka F. Determination of 4-methylimidazole in caramel color by capillary isotachopheresis [J]. Electrophoresis, 1989, 10(11): 801-802.