

Application News

No. L551

高速液体クロマトグラフィー

カラメル色素に含まれる4-メチルイミダゾール分析と高速化の検討

カラメル色素は様々な食品に使用される食品添加物の一種で、食品を茶色に着色するために用いられます。カラメル色素は砂糖やグルコースなどの糖類を加熱することで製造されていますが、製造過程で4-メチルイミダゾールという副生成物が含まれることがあります。4-メチルイミダゾールは国際毒性プログラム (NTP) による動物実験により、高い発がん性が明らかになっており、この結果を受け国際がん研究機関 (IARC) のモノグラフには発癌性リスクのある化合物として掲載されています。¹⁾ このような背景から欧州や米国ではカラメル色素中の4-メチルイミダゾール含有量の規格を設定しており、カリフォルニア州では一日あたりの摂取量に制限を設けています。²⁾

本稿では“Nexera-i™ MT”を用いてコーラ中の4-メチルイミダゾールを分析した例を紹介します。

K. Nakajima

■ Nexera-i MT の HPLC 流路を用いた 4-メチルイミダゾールの分析

分析条件を表1に示します。図2はコーラ原液に4-メチルイミダゾールを50 µg/L添加し、上記条件により分析した際のクロマトグラムです。表1の条件により、4-メチルイミダゾールの溶出ピークがコーラに含まれる夾雑成分の影響を受けることなく分析できることが分かりました。

次に4-メチルイミダゾールの標準物質を超純水に溶かし5 mg/Lの標準溶液を調製しました。標準溶液を移動相で希釈して5 mg/L、1 mg/L、500 µg/L、100 µg/L、50 µg/Lの標準溶液を調製し、これらを分析することで検量線を作成しました(図3)。検量線は、寄与率 $R^2 > 0.9999$ を示し、低濃度域でも良好な直線性を示すことが確認されました。また表2には4-メチルイミダゾールを50 µg/L添加したコーラ原液での該当ピークの面積再現性と同様の試料による添加回収試験の結果を示しました。

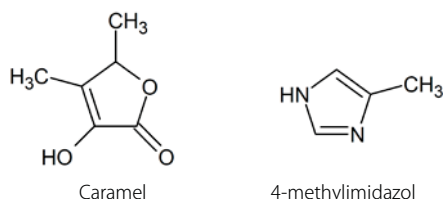


図1 代表的なカラメル色素と4-メチルイミダゾールの構造

表1 分析条件 (汎用分析)

System	: Nexera-i MT
Column	: Shim-pack™ 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)

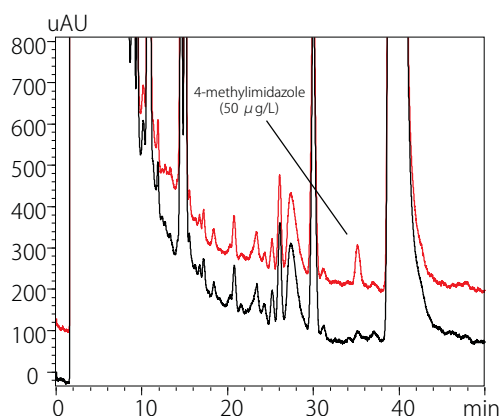


図2 コーラ中の4-メチルイミダゾールのクロマトグラム (黒: コーラ原液, 赤: コーラに4-メチルイミダゾールを添加した試料)

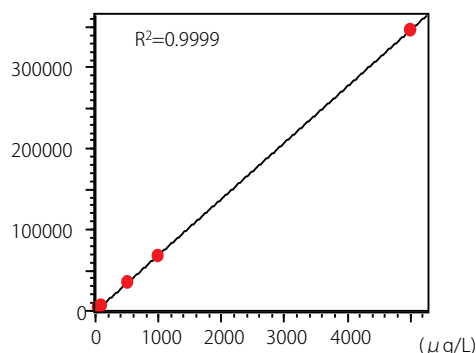


図3 4-メチルイミダゾール検量線 (汎用分析) (5 mg/L, 1 mg/L, 500 µg/L, 100 µg/L, 50 µg/L)

表2 汎用分析条件における4-メチルイミダゾールの分析結果

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

Method Transferによる

4-メチルイミダゾール分析条件の高速化

“Nexera-i MT”は一つのシステムにHPLC流路とUHPLC流路を有しており、汎用条件から高速条件への移行を1台で達成することができます。この機能を用い、表1のコーラ中4-メチルイミダゾール分析の高速化を検討しました。また、HPLCシステムでの分析をUHPLCシステムにより高速化する場合、分析条件の移行が必要です。今回はLabSolutions™に搭載された“Method Transfer”機能により高速分析に対応したメソッドを作成しました(図4)。

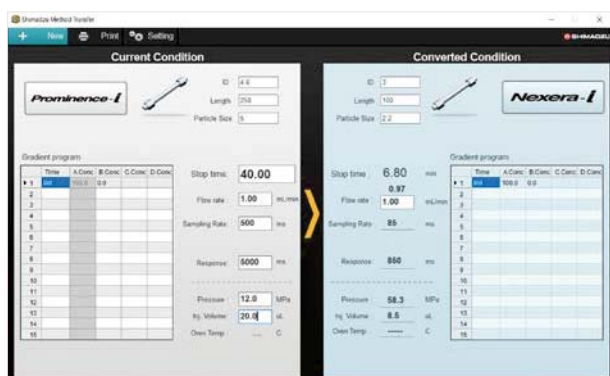


図4 Method Transferによる高速分析条件の作成画面

Nexera-i MTのUHPLC流路を用いた 4-メチルイミダゾールの高速分析

Method Transferを用いて作成した分析条件を表3に示しました。図5は表3に示す条件でコーラ中に添加した4-メチルイミダゾールを分析したクロマトグラムです。図6は同じ分析条件における検量線を示し、寄与率は $R^2 > 0.9999$ と良好でした。また表4は繰り返し再現性と添加回収試験の結果を表し、作成した高速分析条件が汎用分析と同等の定量性を示すことが分かりました。

表3 分析条件 (高速分析)

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) IARC Monographs on the Identification of Carcinogenic Hazards to Humans, vol. 101
2) California's Proposition 65 list

Nexera、Shim-packおよびLabSolutionsは、株式会社島津製作所の日本およびその他の国における商標です。

株式会社 島津製作所

分析計測事業部
グローバルアプリケーション開発センター

初版発行：2019年 11月

島津コールセンター ☎ 0120-131691
(075) 813-1691

※本資料は発行時の情報に基づいて作成されており、予告なく改訂することがあります。
改訂版は下記の会員制 Web Solutions Navigator で閲覧できます。

<https://solutions.shimadzu.co.jp/solnavi/solnavi.htm>

会員制情報サービス「Shim-Solutions Club」にご登録ください。

<https://solutions.shimadzu.co.jp/>

会員制 Web の閲覧だけでなく、いろいろな情報サービスが受けられます。

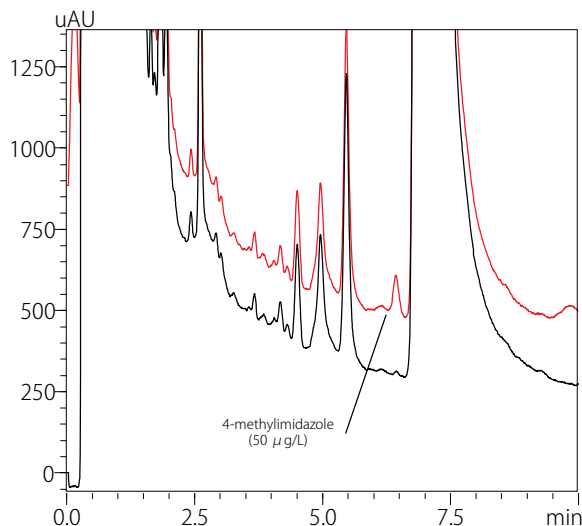


図5 コーラ中の4-メチルイミダゾールの分析クロマトグラム
(黒: コーラ原液, 赤: コーラに4-メチルイミダゾールを添加した試料)

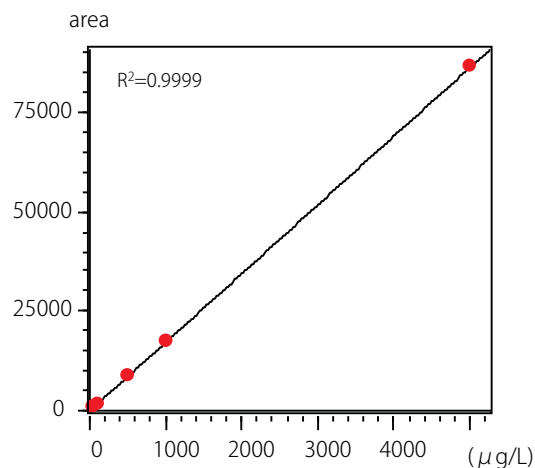


図6 4-メチルイミダゾール検量線 (高速分析)
(5 mg/L, 1 mg/L, 500 μg/L, 100 μg/L, 50 μg/L)

表4 高速分析条件における4-メチルイミダゾールの分析結果

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

まとめ

“Nexera-i MT”を用いたコーラ中の4-メチルイミダゾールのHPLC分析を行いました。また、LabSolutionsのMethod Transfer機能により、UHPLC流路を用いた高速分析の条件を簡便に作成し、1台の装置で50分の分析を10分に短縮するとともに、HPLC分析と同等の定量性が得られることを確認しました。