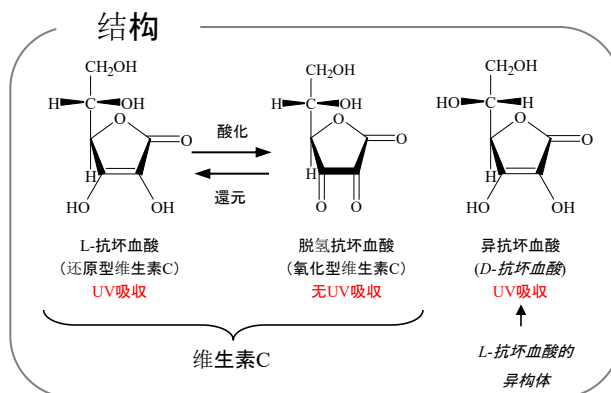


这次,我们用GL7700高速液体色谱系列(HPLC-PDA)来介绍维生素C的分析。

抗坏血酸(AsA)和脱氢抗坏血酸(DHAsA),含有维生素C。AsA可以吸收UV,但是DHAsA没有。因此,有必要对化合物的结构进行转换,以使用紫外检测器分析维生素C的总量。另外,还有一种AsA的异构体,叫做异抗坏血酸(ErA),它是一种食品添加剂。

这项分析是根据日本食品卫生检验指南进行的。



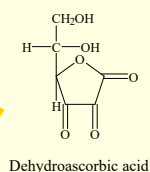
概要

抗坏血酸的总量可通过DNPH衍生化方法测量。

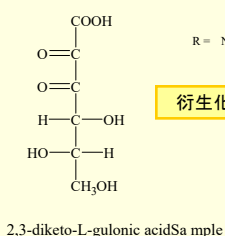
另一方面,可以通过同型半胱氨酸还原法,可以同时用异抗坏血酸进行分析,并且可以单独分析还原的抗坏血酸。

样品

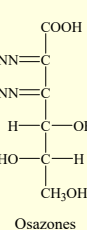
氧化反应



加水分解



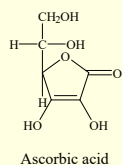
衍生化



测量

HPLC
(DNPH衍生化方法)

还原反应



测量

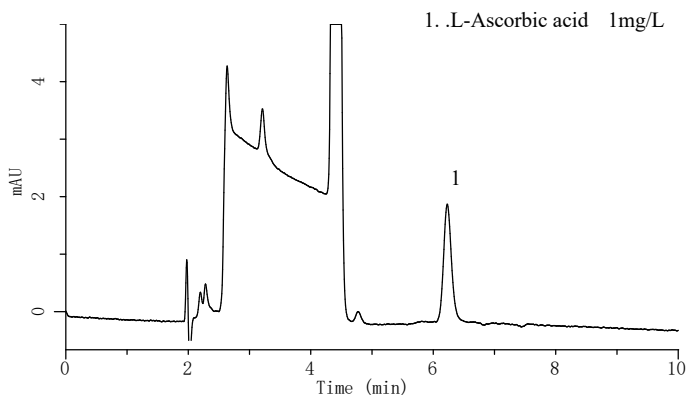
HPLC
(同型半胱氨酸还原法)

Structures are created using Chemistry 4-D Draw which is provided by ChemInnovation Software, Inc.

标准溶液测量示例

DNPH衍生化方法

此方法被食品卫生检查指南的食品成分和卫生测试法2005所采用。

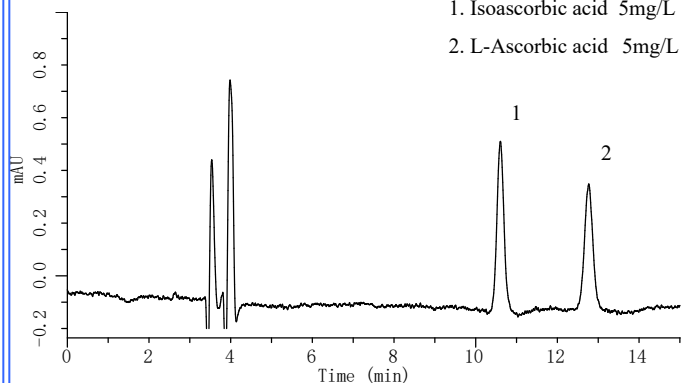


HPLC条件①

色谱柱 : Inertsil SIL-100A
 (5 μ m, 250 x 4.6 mm I.D.)
 固定相 : A) CH₃COOC₂H₅
 B) n-Hexane
 C) CH₃COOH
 A/B/C = 50/40/10, v/v/v
 流量 : 1.5 mL/min
 色谱柱温度 : 40 °C
 检测 : PDA 495 nm
 注入量 : 20 μ L

同型半胱氨酸还原法

此方法被食品卫生检查指南的食品添加物实验所采用。



HPLC条件②

色谱柱 : Inertsil NH₂
 (5 μ m, 250 x 4.6 mm I.D.)
 固定相 : A) CH₃CN
 B) CH₃OH
 C) 0.01M磷酸二氢钠水溶液
 D) 0.03%同型半胱氨酸
 A/B/C/D = 600/30/100/30, v/v/v/v
 流量 : 1.0 mL/min
 色谱柱温度 : 40 °C
 检测 : PDA 270 nm
 注入量 : 5 μ L

DNP衍生化方法

前处理

样品

- 5g
- 5%Metaphosphoric acid 30mL
- 研磨萃取
- 5%Metaphosphoric acid定量至50mL

过滤

- 离心分离 3000rpm, 10min
- 0.45μm过滤器

制备

- 2mL制备

衍生化

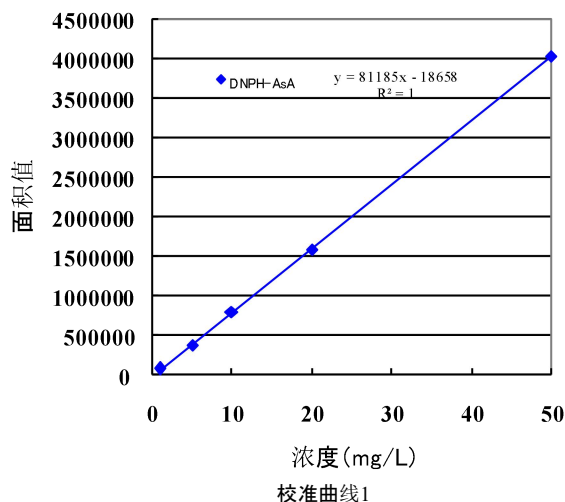
- 5%Metaphosphoric acid 1mL
- 2,6--dichloroindophenol 3滴
- 2%thiourea·Metaphosphoric acid solution 2mL
- 2% 2,4-DNP·4.5M Sulfuric acid 0.5mL
- 加热(50°C, 90min)
- 水冷

液液萃取

- Ethyl acetate 2mL
- 振荡 1hr

测量样品

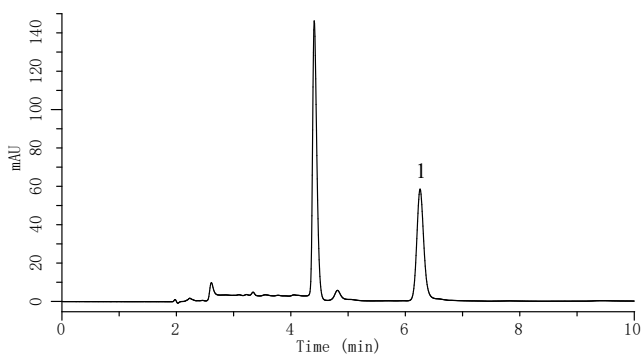
- 上层
- 0.5mL制备
- 用乙烷定量至1mL
- 下层
- 废弃



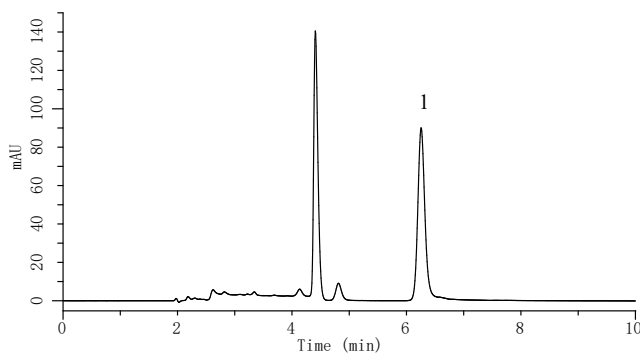
※1:通过逐步稀释L-抗坏血酸并对其进行预处理来制备校准样品。
 上述浓度是稀释后的浓度。

测定例(HPLC条件①)

茶叶萃取液

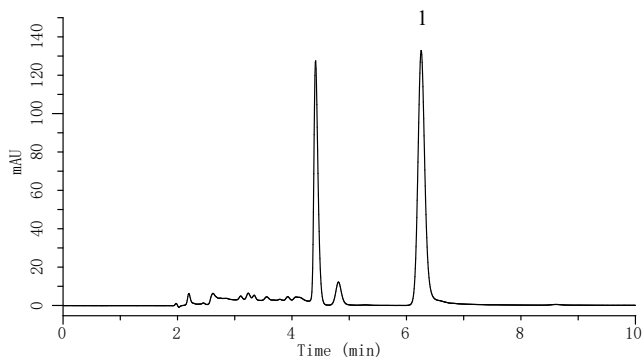


香肠萃取液

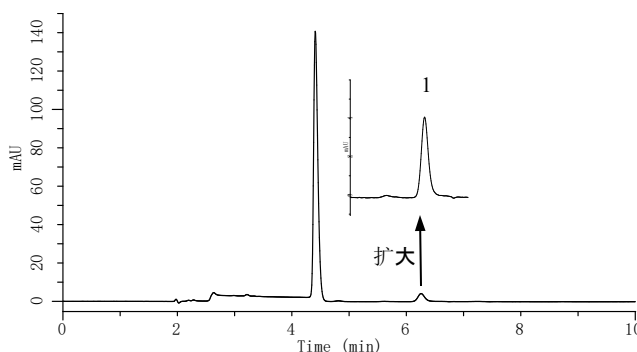


1 L-Ascorbic acid

奶粉萃取液

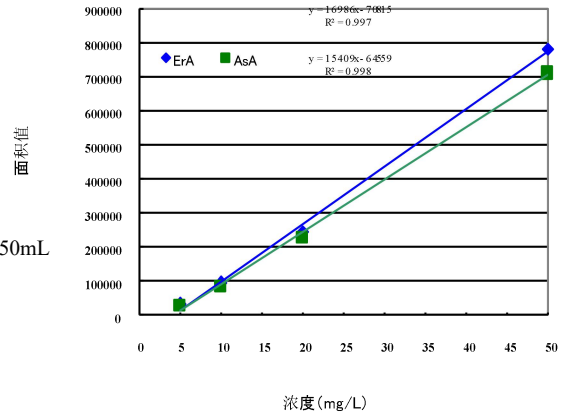
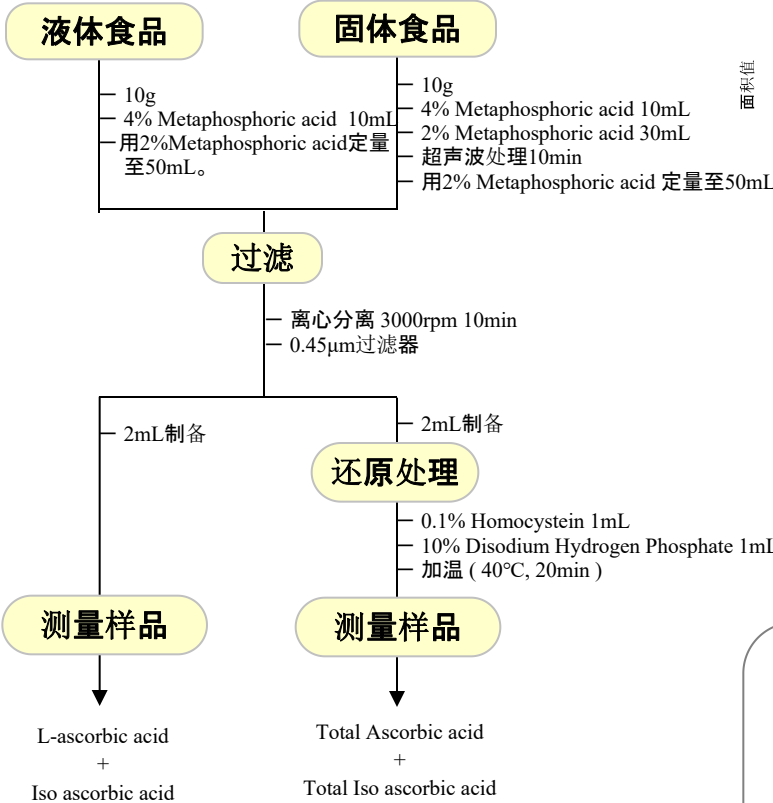


冷冻菠菜萃取液

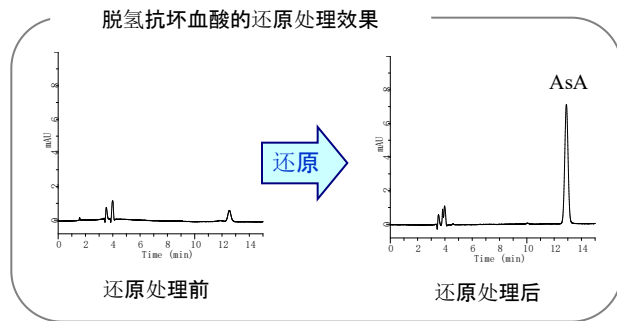


同型半胱氨酸还原法测量

前处理

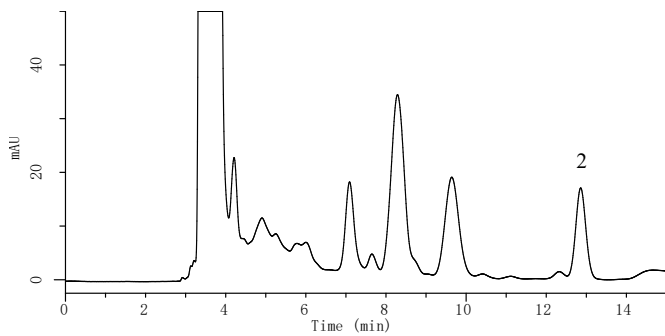


※2: 标准溶液用2%偏磷酸稀释。

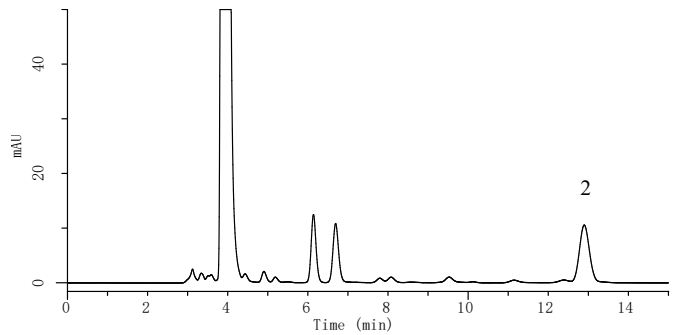


测定例(HPLC条件②)

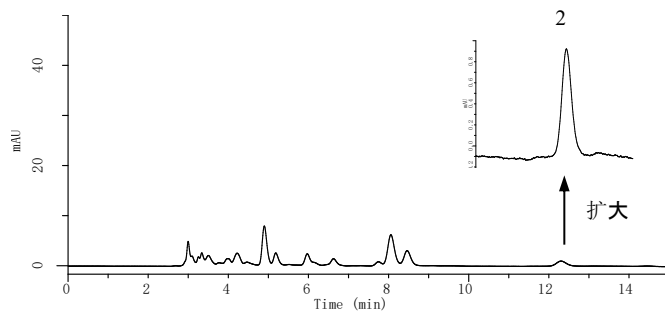
茶叶萃取液



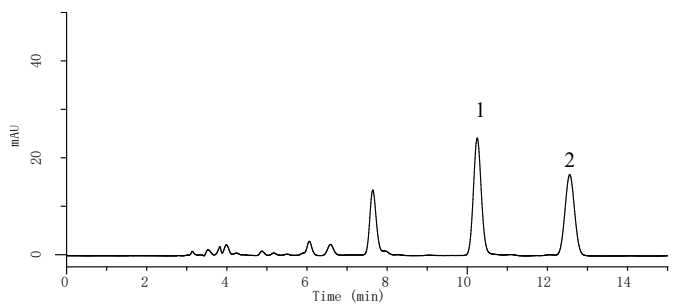
香肠萃取液



啤酒萃取液

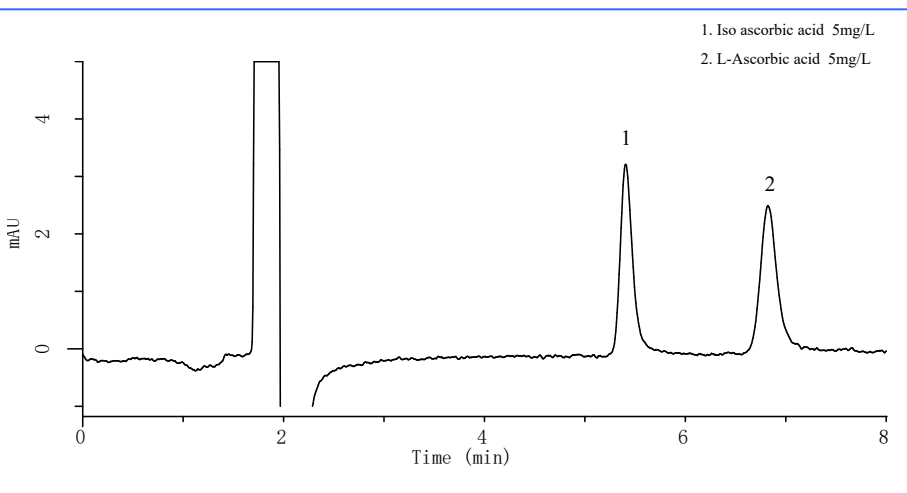


鱼肉香肠萃取液



通过同型半胱氨酸还原法改变分析条件

同型半胱氨酸还原方法的HPLC分析条件被记载作为食品卫生检验指南中的参考方法，以下方法也是。



HPLC条件③

色谱柱 : Inertsil NH₂
(5μm, 250 x 4.6 mm I.D.)
固定相 : A) CH₃CN
 B) H₂O
 C) CH₃COOH
 A/B/C = 87/11/2, v/v/v
流量 : 2.0 mL/min
色谱柱温度 : 40 °C
检测 : PDA 243 nm
注入量 : 20 μL



〒163-1130 東京都新宿区西新宿6丁目22番1号 新宿スクエアタワー30F

東 京 営 業 部
大 阪 支 店
東 北 営 業 所
筑 波 営 業 所
千 葉 営 業 所
北 関 東 営 業 所
横 浜 営 業 所
名 古 屋 営 業 所
広 島 営 業 所
九 州 営 業 所

カスタマーサポートセンター