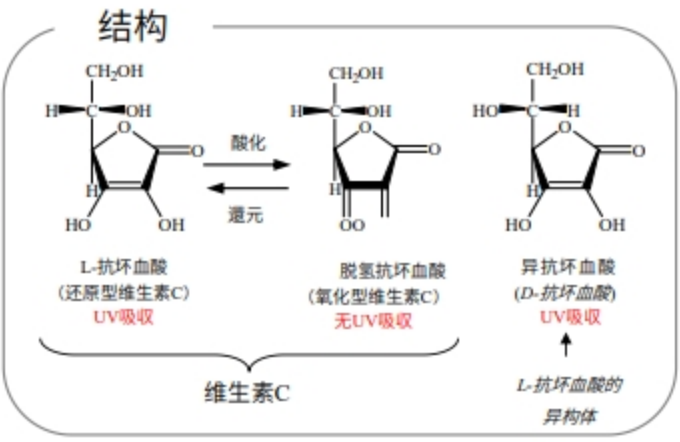
食品中维生素C的分析

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，以便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。

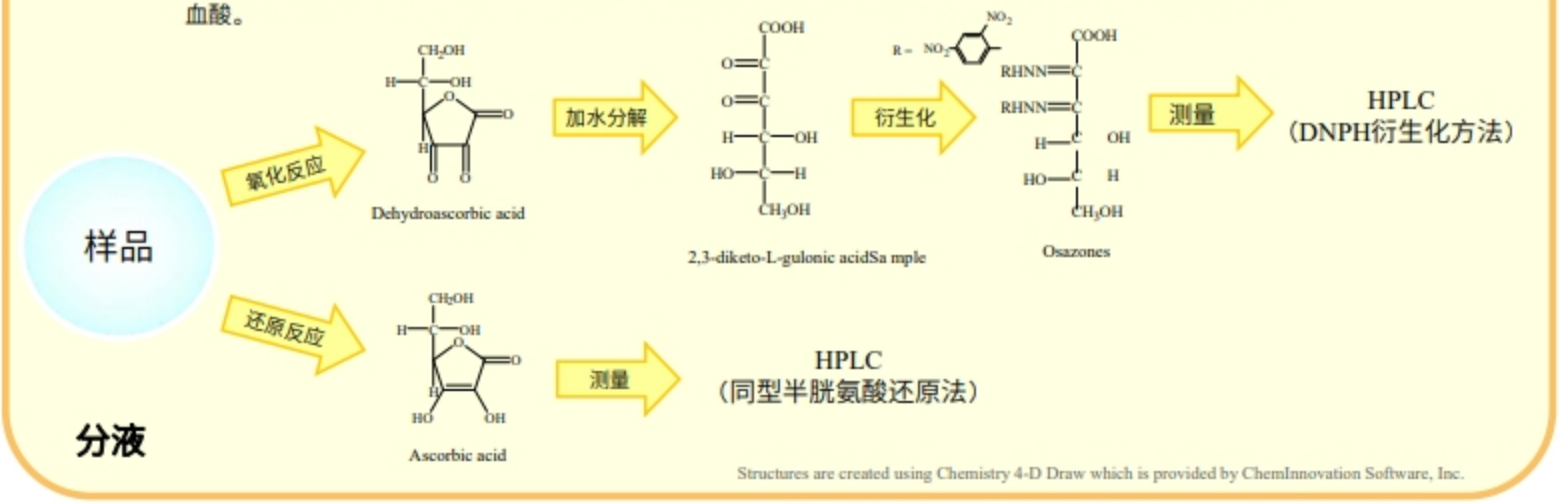
这项分析是根据日本食品卫生检验指南进行的。

结构



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。

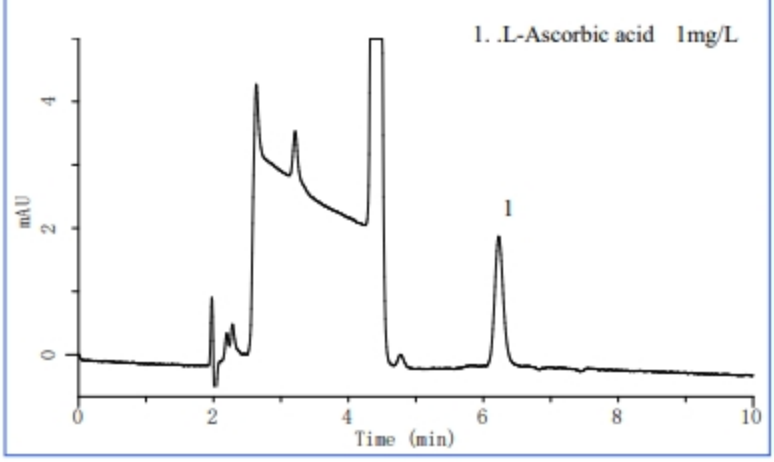


Structures are created using Chemistry 4-D Draw which is provided by ChemInnovation Software, Inc.

标准溶液测量示例

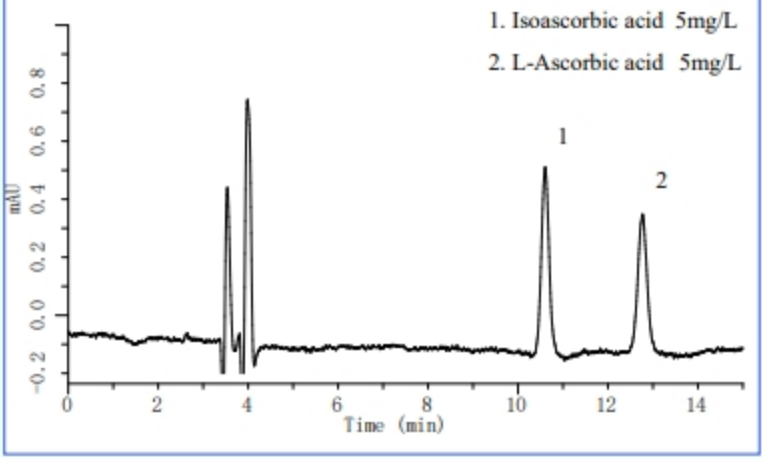
DNPH衍生化方法

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。



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①

色谱柱	: Inertsil SIL-100A (5μm, 250 x 4.6 mm I.D.)
固定相	: A) $CH_3COOC_2H_5$ B) n-Hexane C) CH_3COOH A/B/C = 50/40/10, v/v/v
流量	: 1.5 mL/min
色谱柱温度	: 40 ℃
检测	: PDA 495 nm
注入量	: 20 μL

HPLC条件②

色谱柱	: Inertsil NH_2 (5μm, 250 x 4.6 mm I.D.)
固定相	: A) CH_3CN B) CH_3OH 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 ℃
检测	: PDA 270 nm
注入量	: 5 μL

DNPH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 acid1mL
- 2,6--dichloroindophenol 3滴
- 2%thiourea・Metaphosphoric acid solution 2mL
- 2% 2,4-DNPH・4.5M Sulfuric acid 0.5mL
- 加热(50℃, 90min)
- 水冷

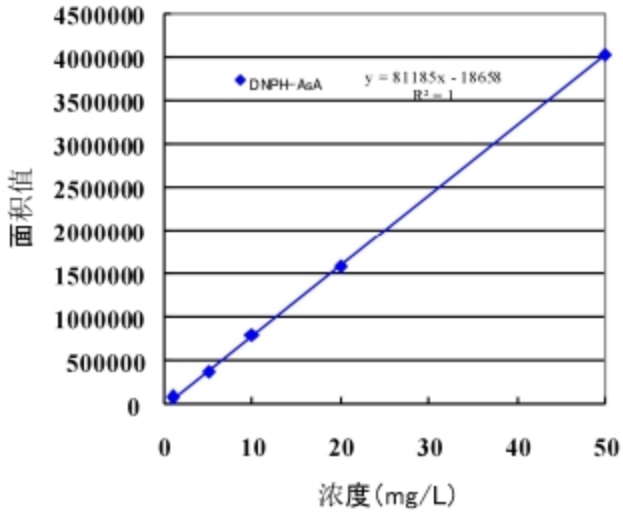
液液萃取
- Ethyl acetate 2mL
- 振荡1hr

- 上层
- 0.5mL制备
- 用乙烷定量至1mL

测量样品

- 下层

废弃



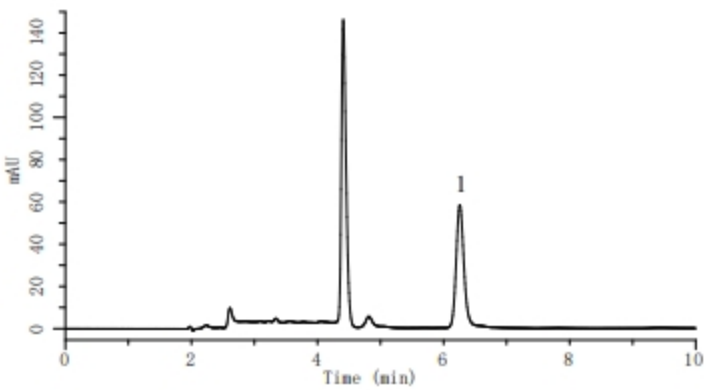
校准曲线1

※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。

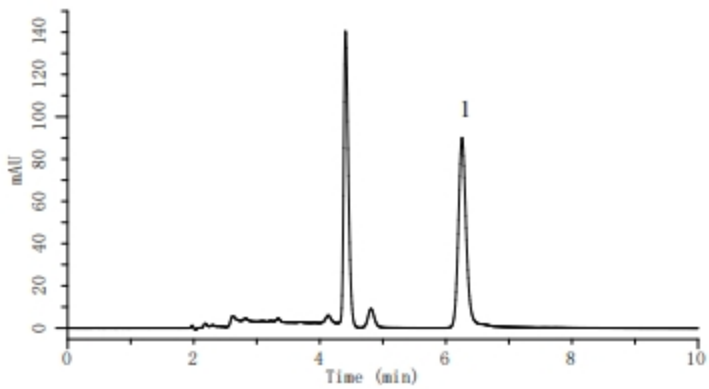
测定例(HPLC条件①)

1 L-Ascorbic acid

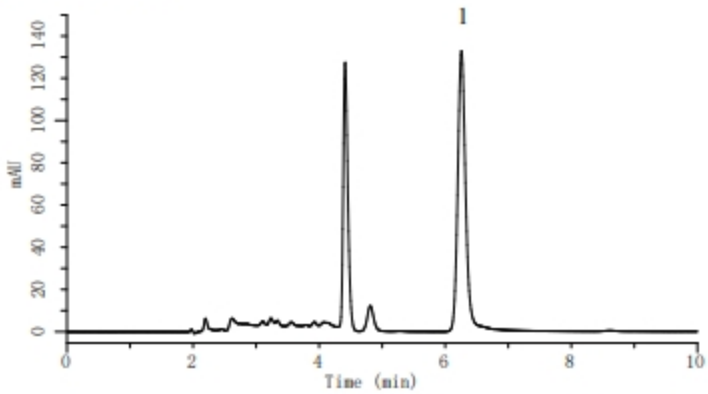
茶叶萃取液



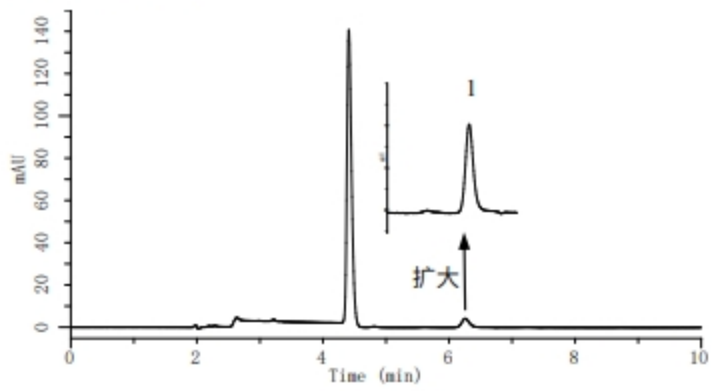
香肠萃取液



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

液体食品

- 10g
- 4% Metaphosphoric acid 10mL
- 用2%Metaphosphoric acid定量至50mL。

固体食品

- 10g
- 4% Metaphosphoric acid 10mL
- 2% Metaphosphoric acid 30mL
- 超声波处理10min
- 用2% Metaphosphoric acid 定量至50mL

过滤

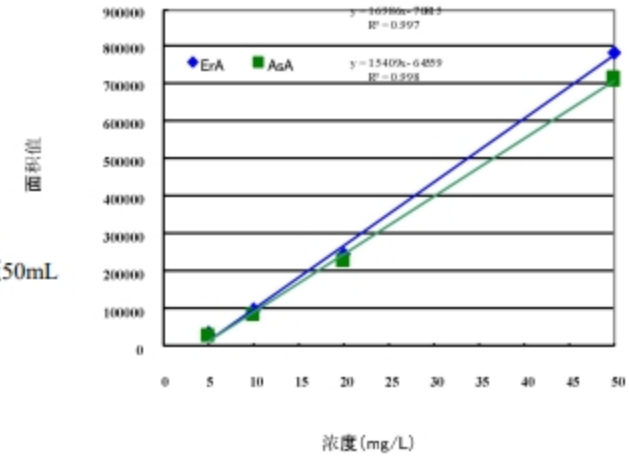
- 离心分离 3000rpm 10min
- 0.45μm过滤器

2mL制备 → **测量样品** → L-ascorbic acid + Iso ascorbic acid

2mL制备 → **还原处理**

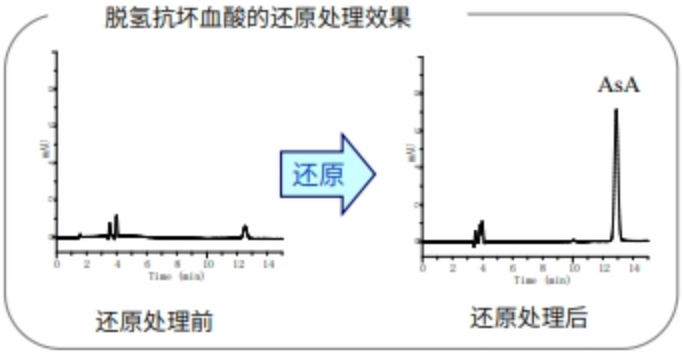
- 0.1% Homocystein 1mL
- 10% Disodium Hydrogen Phosphate 1mL※3
- 加温 (40℃, 20min)

→ **测量样品** → Total Ascorbic acid + Total Iso ascorbic acid

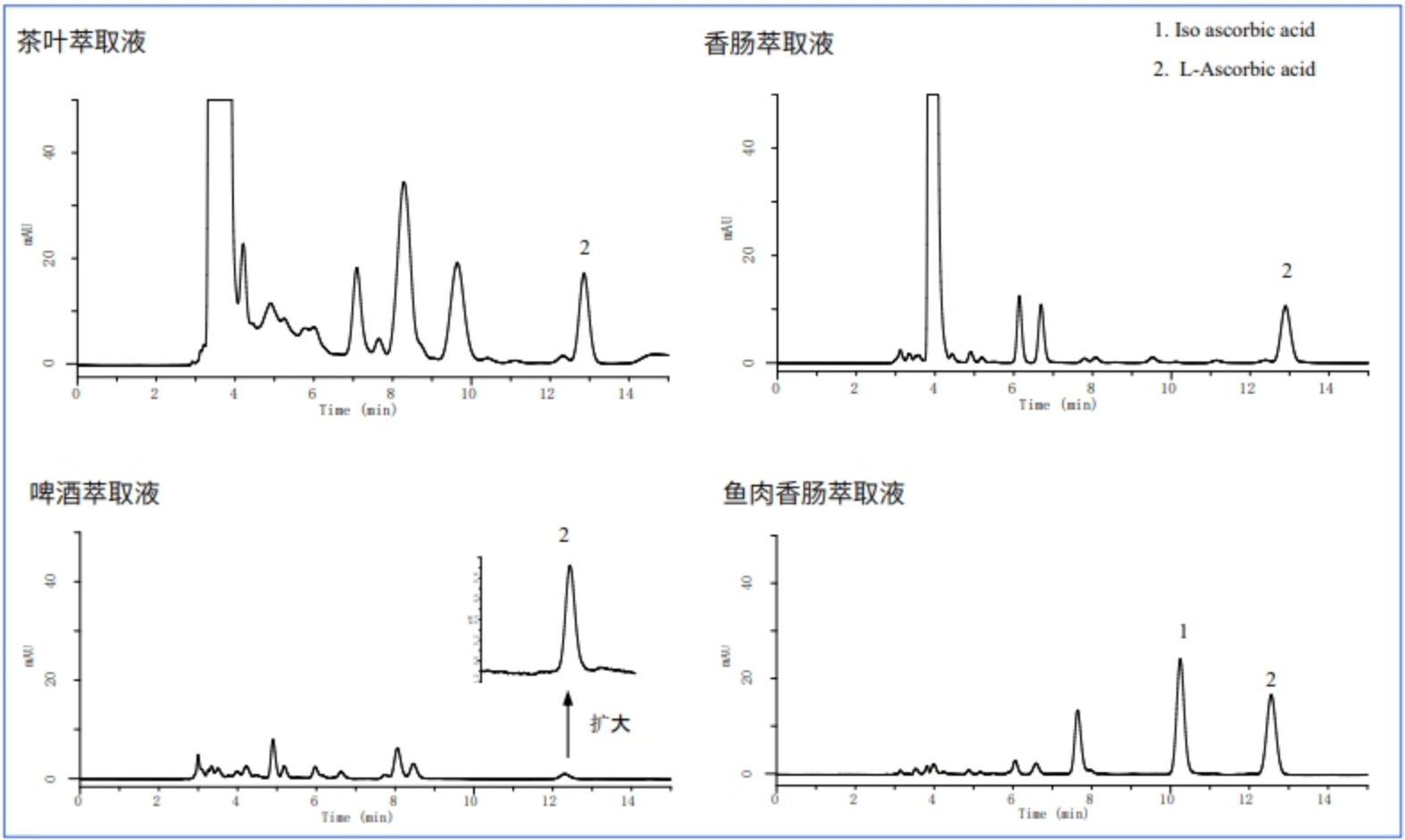


校准曲线※2

※2:标准溶液用2%偏磷酸稀释。

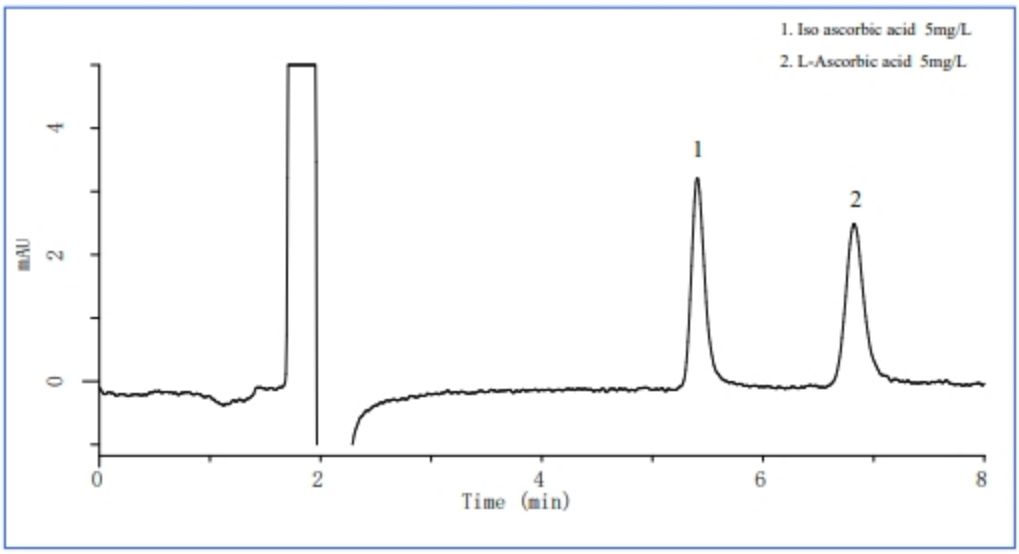


测定例(HPLC条件②)



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 NH_2
(5μm, 250 x 4.6 mm I.D.)
固定相 : A) CH_3CN
B) H_2O
C) CH_3COOH
A/B/C = 87/11/2 , v/v/v
流量 : 2.0 mL/min
色谱柱温度 : 40 ℃
检测 : PDA 243 nm
注入量 : 20 μL

ジーエルサイエンス株式会社
GL Sciences
〒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