

TSK-GEL 色谱柱应用数据集 (1)

— 食品成分・食品添加剂 —



TSK-GEL 色谱柱应用数据集 (1)

—食品成分・食品添加剂—

目 录

前言	1
应用数据	
1 水溶性维生素的分离(1)	2
2 脂溶性维生素的分离	2
3 水溶性和脂溶性维生素的同时分离	3
4 软饮料中水溶性维生素的分离	3
5 水溶性维生素的分离(2)	4
6 核酸碱基的分离(1)	4
7 核酸碱基的分离(2)	5
8 核苷的分离	5
9 核苷酸的分离(1)	6
10 核苷酸的分离(2)	6
11 核苷酸的分离(3)	7
12 有机酸的分离(1)	7
13 有机酸的分离(2)	8
14 儿茶酚类物质的分离	8
15 绿茶中儿茶酚类物质的分离	9
16 咖啡中的甜味剂(三氯蔗糖)的分离	9
17 苹果汁中的甜味剂(环己基氨基磺酸:甜蜜素)的分离	10
18 DL- α -硫辛酸的分离(1)	10
19 DL- α -硫辛酸的分离(2)	11
20 饮料中辅酶 Q10 的分离	11
21 葡萄糖酸氯己定的分离	12
22 糖果中食用色素的分离	12
23 绿原酸的分离	13
24 咖啡中绿原酸的分离	13
25 大豆提取液中异黄酮类物质的分离	14
26 大豆饮料中异黄酮类物质的分离	14
27 大豆多肽果冻饮料提取液的分离	15
样品前处理	15
1 三氯蔗糖:依照食品添加剂测试法	16
2 环己基氨基磺酸:依照食品添加剂测试法	16
索引	17-19

前言

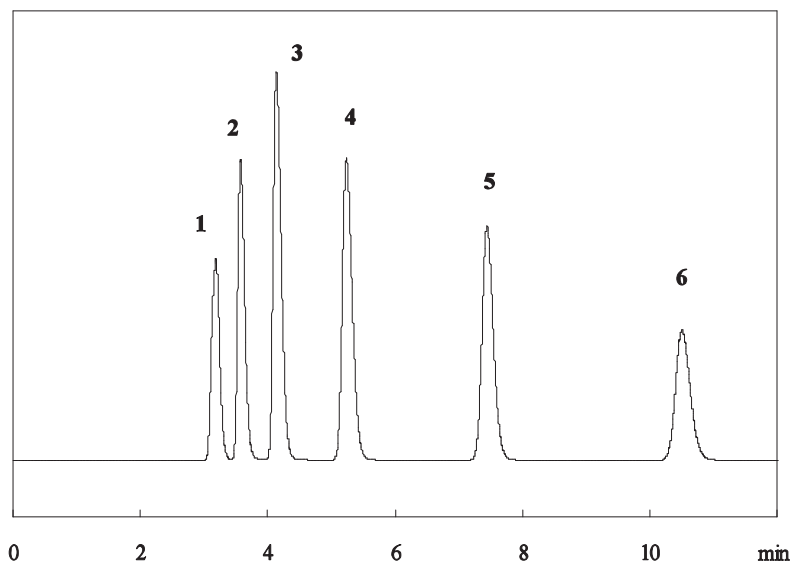
随着食品生产、加工及保存技术的飞跃发展，我们可以享受到丰富多彩的饮食生活。然而肥胖、生活习惯病（成人病）等的增加，让人们越来越意识到健康的重要性，同时也越来越多地关心食品中所包含的营养成分和食品的安全问题。

近些年来，食品成分、食品添加剂以及食品中残留化学物质的分析方法迅速发展，增加了对开发更为准确且更为简便的分析方法的需求。HPLC 作为满足这些要求的分析法之一，已经在多数食品分析法中得以应用和普及。

本数据集是将使用 TSK-GEL 色谱柱对食品成分、食品添加剂等物质的分析数据进行的汇总。

1 水溶性维生素的分离(1)

该数据为反相色谱法分析分离水溶性维生素类物质的例子。对于维生素 C、烟酰胺、烟酸等高级物质也具有良好的分离效果。



Column : TSKgel ODS-100V 5 μ m
(4.6 mm I.D. \times 15 cm)
Eluent : 0.1% TFA in H₂O/CH₃CN = 99/1
Flow rate : 1.0 mL/min
Detection : UV (270 nm)
Temp. : 25 $^{\circ}$ C

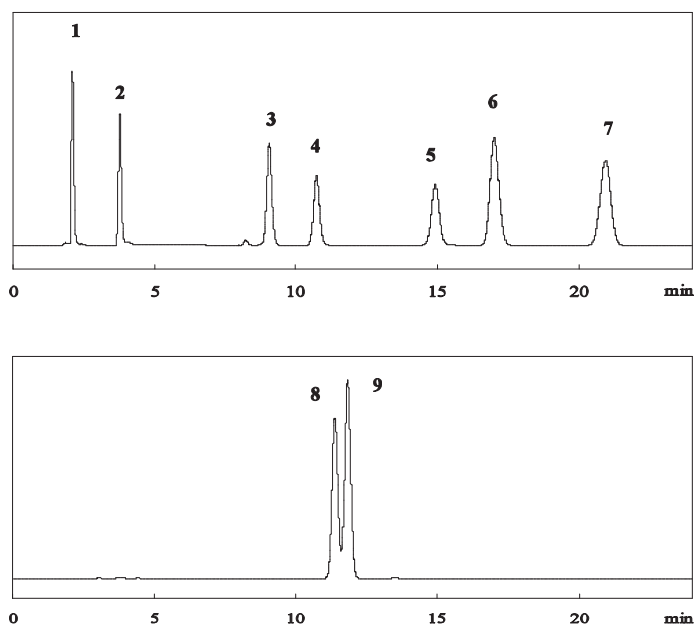
Samples

1 : L-ascorbic acid (vitamin C)	1.0 g/L
2 : nicotinamide	0.5 g/L
3 : nicotinic acid	1.0 g/L
4 : thiamine (vitamin B ₁)	0.25 g/L
5 : pyridoxal (vitamin B ₆)	0.1 g/L
6 : pyridoxine (vitamin B ₆)	0.1 g/L

Inj. volume : 5 μ L

2 脂溶性维生素的分离

该数据为反相色谱法分析分离脂溶性维生素类物质的例子。在仅仅使用乙腈作为流动相的条件下，并得到了分离效果良好的谱图。在同样的条件下，也可以进行维生素D₂、D₃的分离分析。



Column : TSKgel ODS-100Z 5 μ m
(4.6 mm I.D. \times 15 cm)
Eluent : CH₃CN
Flow rate : 1.0 mL/min
Detection : UV (280 nm)
Temp. : 40 $^{\circ}$ C

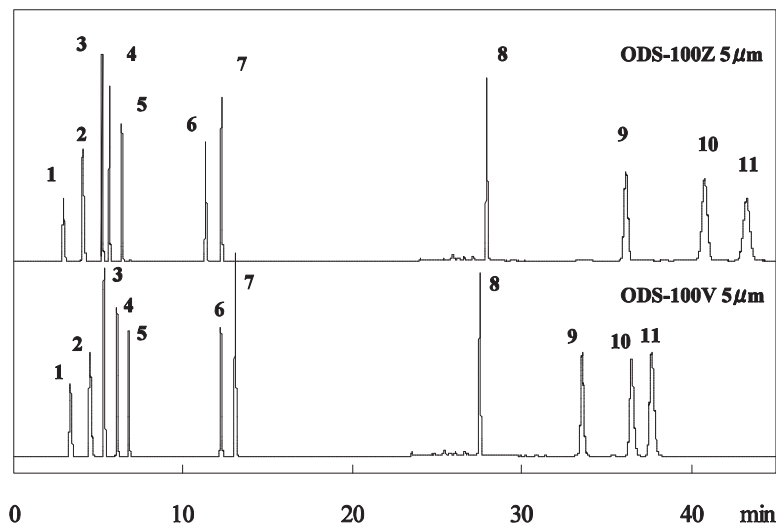
Samples

1 : menadione (vitamin K ₃)	0.5 g/L
2 : retinol (vitamin A)	1.0 g/L
3 : menaquinone (vitamin K ₂)	0.5 g/L
4 : δ -tocopherol (vitamin E)	1.0 g/L
5 : α -tocopherol (vitamin E)	1.0 g/L
6 : α -tocopherol acetate	2.0 g/L
7 : phylloquinone (vitamin K ₁)	0.5 g/L
8 : ergocalciferol (vitamin D ₂)	0.25 g/L
9 : cholecalciferol (vitamin D ₃)	0.25 g/L

Inj. volume : 5 μ L

3 水溶性和脂溶性维生素的同时分离

下面的谱图为使用 TSKgel ODS-100V 5 μ m 色谱柱和 TSKgel ODS-100Z 5 μ m 色谱柱同时分离多种维生素的实例。使用 TSKgel ODS-100Z 5 μ m 色谱柱可以实现对高疏水性物质的精密分离。



Columns : TSKgel ODS-100V 5 μ m
TSKgel ODS-100Z 5 μ m
(4.6 mm I.D. \times 15 cm)
Eluent : A ; 0.1 % TFA in H₂O
B ; 0.1 % TFA in CH₃CN
Gradient : 0 min 0 % B
20 min 40 % B
22 min 100 % B
50 min 100 % B
Flow rate : 1.0 mL/min
Detection : UV (280 nm)
Temp. : 25 $^{\circ}$ C

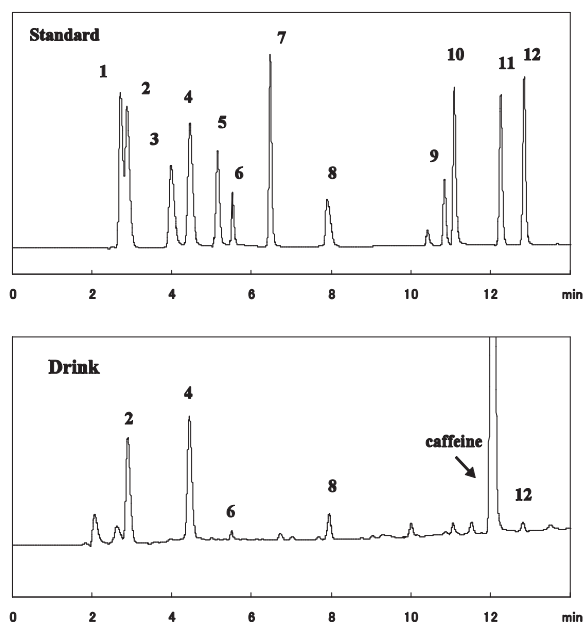
Samples

1 : L-ascorbic acid (vitamin C)	1.0 g/L	7 : riboflavin (vitamin B ₂)	0.1 g/L
2 : nicotinic acid	1.0 g/L	8 : retinol (vitamin A)	2.0 g/L
3 : thiamine (vitamin B ₁)	0.25 g/L	9 : δ -tocopherol (vitamin E)	2.0 g/L
4 : pyridoxal (vitamin B ₆)	0.1 g/L	10 : α -tocopherol (vitamin E)	2.0 g/L
5 : pyridoxine (vitamin B ₆)	0.1 g/L	11 : α -tocopherol acetate	2.0 g/L
6 : caffeine	0.25 g/L		

Inj. volume : 5 μ L

4 软饮料中水溶性维生素的分离

该数据为对市售软饮料中的水溶性维生素的分析实例。测定样品经离子交换水稀释、过滤后直接上样。在同样的分析条件下，除了水溶性维生素类物质外，还可以同时对咖啡因的分离分析。



Column : TSKgel ODS-100V 5 μ m
(4.6 mm I.D. \times 15 cm)
Eluent : A ; 10 mmol/L HCOONH₄ (pH3.5)
B ; CH₃CN
Gradient : 0 min 0%B
15 min 30%B
Flow rate : 1.0 mL/min
Detection : UV (254 nm)
Temp. : 40 $^{\circ}$ C

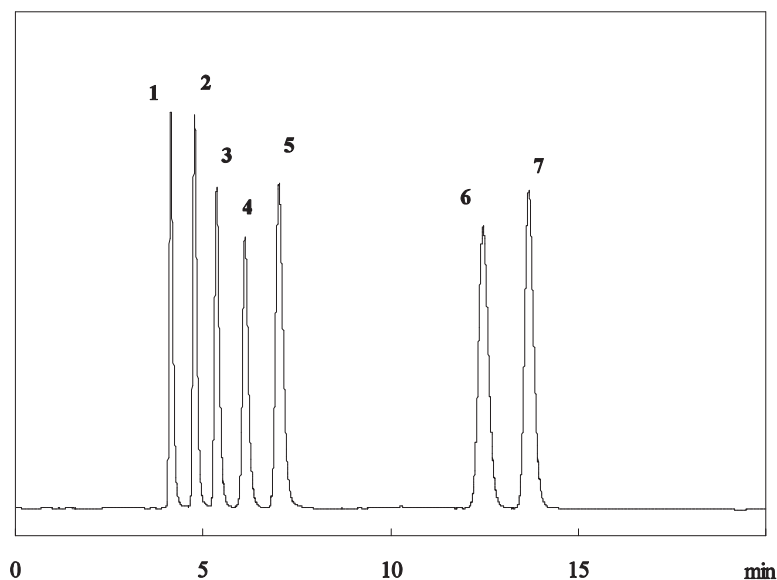
Samples : Soft drink Compounds

1 : pyridoxamine	
2 : L-ascorbic acid (vitamin C)	0.04 g/L
3 : thiamine (vitamin B ₁)	
4 : nicotinic acid	0.01 g/L
5 : pyridoxal (vitamin B ₆)	
6 : pyridoxine (vitamin B ₆)	0.003 g/L
7 : nicotinamide	
8 : pantothenic acid	7.0 g/L
9 : folic acid	
10 : riboflavin phosphate sodium salt	
11 : cyanocobalamin (vitamin B ₁₂)	
12 : riboflavin (vitamin B ₂)	0.0003 g/L

Inj. volume : 5 μ L

5 水溶性维生素的分离(2)

亲水反应色谱法 (HILIC) 已经被广泛应用于糖类等高极性物质的分离。亲水反应色谱与反相色谱具有不同的分离选择性 (请参照并比较 p.2 的数据 1)。下图为使用 TSKgel Amide-80 5 μ m 的 HILIC 色谱柱分离水溶性维生素的实例。



Column : TSKgel Amide-80 5 μ m
(4.6 mm I.D. \times 25 cm)

Eluent : 20 mmol/L KH_2PO_4 (pH 2.0) / CH_3CN
= 20/80

Flow rate : 1.0 mL/min

Detection : UV (260 nm)

Temp. : 40 $^{\circ}\text{C}$

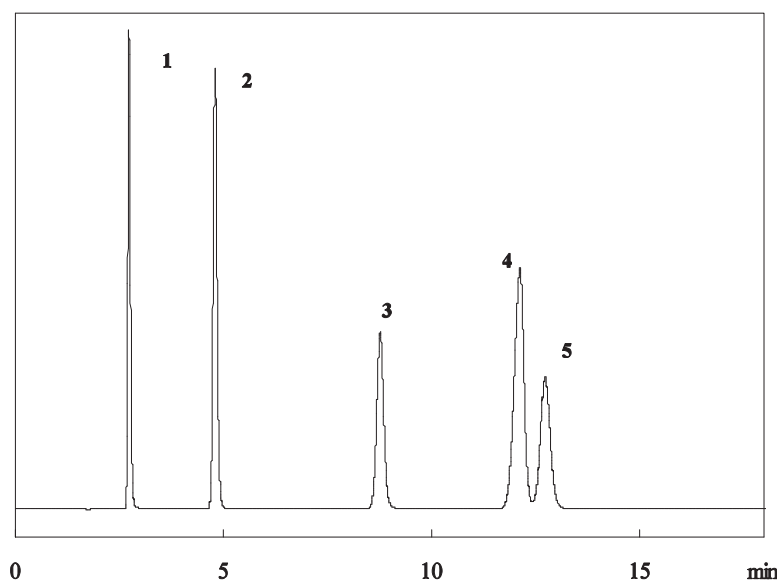
Samples

1 : nicotinic acid	0.25 g/L
2 : nicotinamide	0.25 g/L
3 : iso-ascorbic acid (erythorbic acid)	1.0 g/L
4 : L-ascorbic acid (vitamin C)	1.0 g/L
5 : riboflavin (vitamin B ₂)	0.025 g/L
6 : pyridoxal (vitamin B ₆)	0.05 g/L
7 : pyridoxine (vitamin B ₆)	0.05 g/L

Inj. volume : 5 μ L

6 核酸碱基的分离(1)

TSKgel ODS-100V 5 μ m 色谱柱由于其填料表面的极性很高, 可以使用不含有机溶剂的流动相。因此, 也适用于分离分析亲水性高的核酸碱基等物质。



Column : TSKgel ODS-100V 5 μ m

(4.6 mm I.D. \times 15 cm)

Eluent : 20 mmol/L KH_2PO_4 (pH 4.0)

Flow rate : 1.0 mL/min

Detection : UV (260 nm)

Temp. : 25 $^{\circ}\text{C}$

Samples

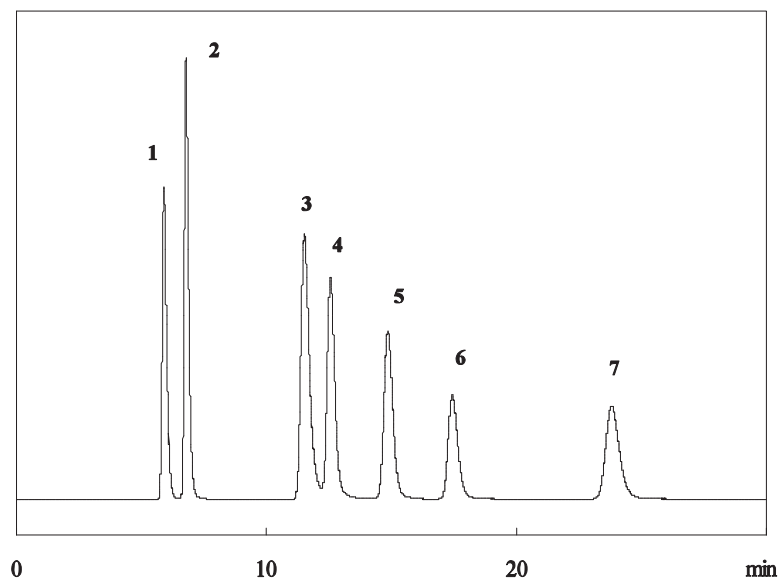
1 : cytosine
2 : uracil
3 : guanine
4 : adenine
5 : thymine

Concentration : 0.1 g/L each

Inj. volume : 5 μ L

7 核酸碱基的分离(2)

以下数据为 TSKgel Amide-80 5 μ m 色谱柱分离核酸碱基的例子。与反相色谱柱 (TSKgel ODS-100V 5 μ m, 参照 p.4 的数据 6) 相比, 样品各组分整体保留增强、分离选择性也有所不同。



Column : TSKgel Amide-80 5 μ m
(4.6 mm I.D. \times 25 cm)

Eluent : 20 mmol/L HCOONH₄ (pH4.0) /CH₃CN
= 10/90

Flow rate : 1.0 mL/min

Detection : UV (260 nm)

Temp. : 25 $^{\circ}$ C

Samples

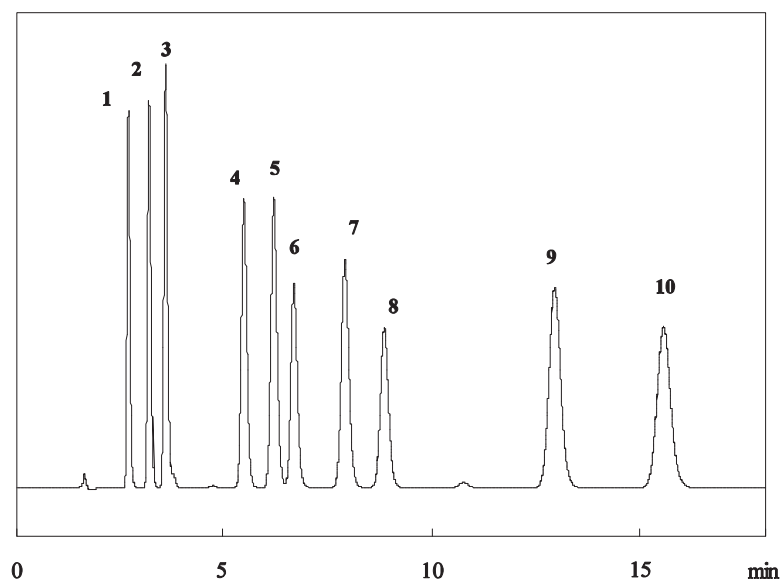
- 1 : thymine
- 2 : uracil
- 3 : adenine
- 4 : hypoxanthine
- 5 : xanthine
- 6 : cytosine
- 7 : guanine

Concentration : 0.04 g/L each

Inj. volume : 5 μ L

8 核苷的分离

以下数据为 TSKgel ODS-100V 5 μ m 色谱柱分离核苷及脱氧核苷的实例。



Column : TSKgel ODS-100V 5 μ m
(4.6 mm I.D. \times 15 cm)

Eluent : 20 mmol/L KH₂PO₄ (pH4.0)/CH₃OH
= 90/10

Flow rate : 1.0 mL/min

Detection : UV (260 nm)

Temp. : 25 $^{\circ}$ C

Samples

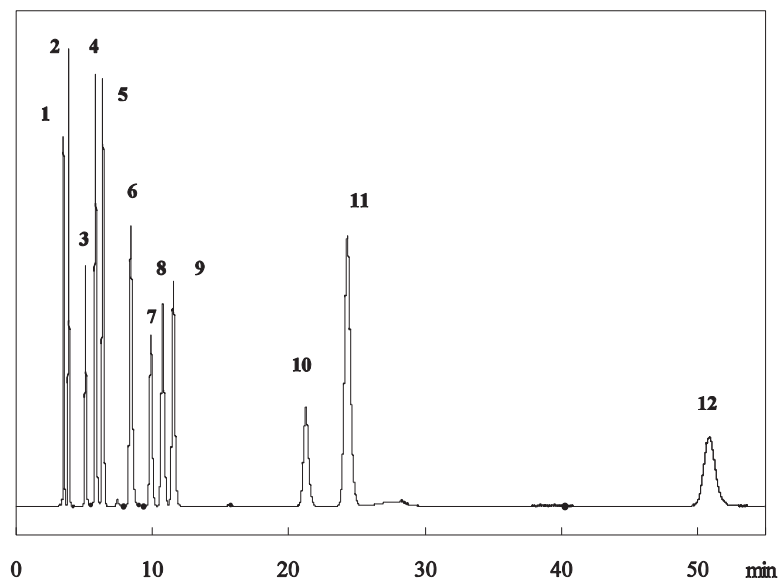
- 1 : cytidine
- 2 : 2'-deoxycytidine
- 3 : uridine
- 4 : inosine
- 5 : guanosine
- 6 : 2'-deoxyinosine
- 7 : 2'-deoxyguanosine
- 8 : thymidine
- 9 : adenosine
- 10 : 2'-deoxyadenosine

Concentration : 0.05 g/L each

Inj. volume : 5 μ L

9 核苷酸的分离(1)

下图为 TSKgel ODS-100V 5 μ m 色谱柱分离核苷酸的实例。



Column : TSKgel ODS-100V 5 μ m
(4.6 mm I.D. \times 25 cm)

Eluent : 100 mmol/L KH_2PO_4 (pH 4.5)

Flow rate : 1.0 mL/min

Detection : UV (260 nm)

Temp. : 25 $^{\circ}\text{C}$

Samples

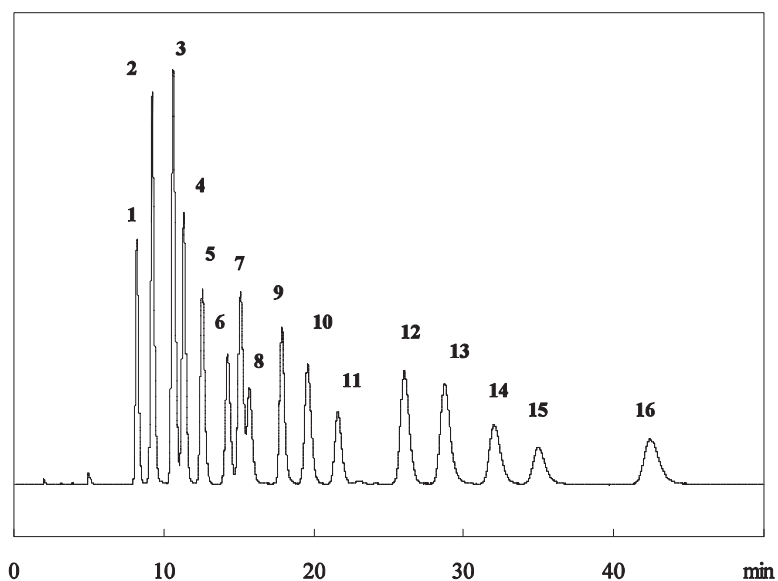
- 1 : UTP
- 2 : UDP
- 3 : CMP
- 4 : GDP
- 5 : UMP
- 6 : ATP
- 7 : TDP
- 8 : ADP
- 9 : IMP
- 10 : TMP
- 11 : AMP
- 12 : dAMP

Concentration : 0.04 g/L each

Inj. volume : 5 μ L

10 核苷酸的分离(2)

以下数据为 TSKgel Amide-80 5 μ m 色谱柱分离核苷酸的实例。与反相色谱柱 (TSKgel ODS-100V 5 μ m, 参照 p.6 的数据 9) 相比, 几乎对所有的核苷酸保留增强、分离选择性也更好。



Column : TSKgel Amide-80 5 μ m
(4.6 mm I.D. \times 25 cm)

Eluent : 75 mmol/L KH_2PO_4 (pH 4.5) / CH_3CN
= 30/70

Flow rate : 1.0 mL/min

Detection : UV (260 nm)

Temp. : 25 $^{\circ}\text{C}$

Samples

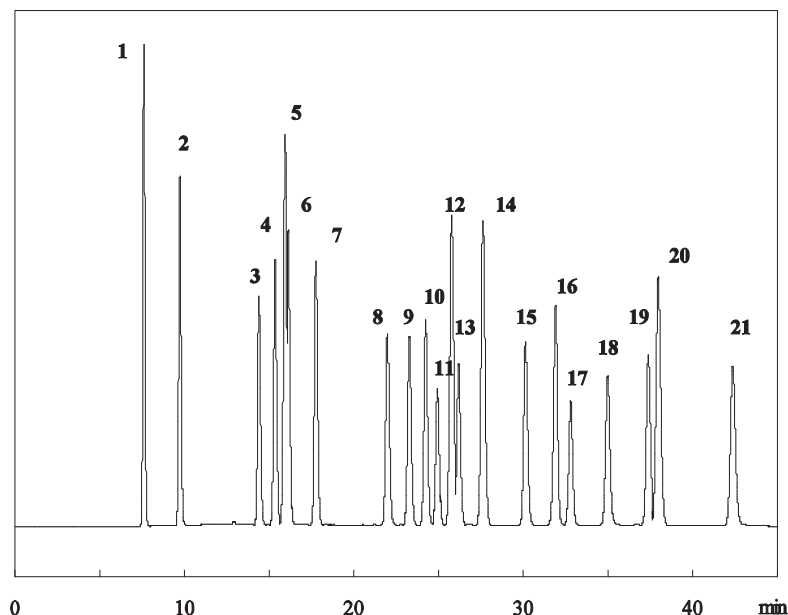
- | | |
|----------|----------|
| 1 : TMP | 11 : IDP |
| 2 : dAMP | 12 : GDP |
| 3 : AMP | 13 : ATP |
| 4 : UMP | 14 : UTP |
| 5 : IMP | 15 : ITP |
| 6 : TDP | 16 : GTP |
| 7 : GMP | |
| 8 : CMP | |
| 9 : ADP | |
| 10 : UDP | |

Concentration : 0.02 g/L each

Inj. volume : 5 μ L

11 核苷酸的分离(3)

下图为向流动相中添加胺类，使用反相离子对色谱分析分离核苷酸的实例。根据所添加的胺类的浓度和结构、烷基链长度、流动相的 pH 值、以及色谱柱温度的不同，测定物质的保留时间、分离选择性等也会有很大的变化。



Column : TSKgel ODS-100V 5 μ m
(4.6 mm I.D. \times 25 cm)
Eluent : A ; 20 mmol/L t-butylamine +
H₃PO₄ (pH6.8)
B ; A/CH₃OH = 90/10
Gradient : 0 min 0 % B
35 min 100 % B
Flow rate : 1.0 mL/min
Detection : UV (260 nm)
Temp. : 25 $^{\circ}$ C

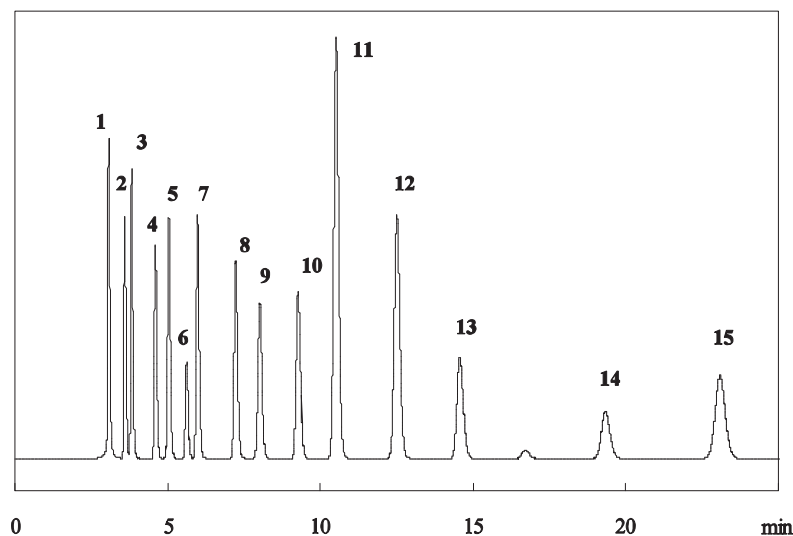
Samples

1 : CMP	8 : CTP	15 : TDP
2 : UMP	9 : TMP	16 : GTP
3 : CDP	10 : GDP	17 : ITP
4 : dUMP	11 : IDP	18 : ADP
5 : GMP	12 : AMP	19 : TTP
6 : IMP	13 : UTP	20 : dAMP
7 : UDP	14 : dGMP	21 : ATP

Concentration : 0.3 g/L each
Inj. volume : 2 μ L

12 有机酸的分离(1)

下图是使用磷酸溶液为流动相分离有机酸的实例。从草酸、甲酸、抗坏血酸等水溶性有机酸到丙酸、衣康酸等疏水性较强的有机酸都可以获得良好的分离效果。



Column : TSKgel ODS-100V 5 μ m
(4.6 mm I.D. \times 25 cm)
Eluent : 0.1 % H₃PO₄
Flow rate : 1.0 mL/min
Detection : UV (210 nm)
Temp. : 40 $^{\circ}$ C

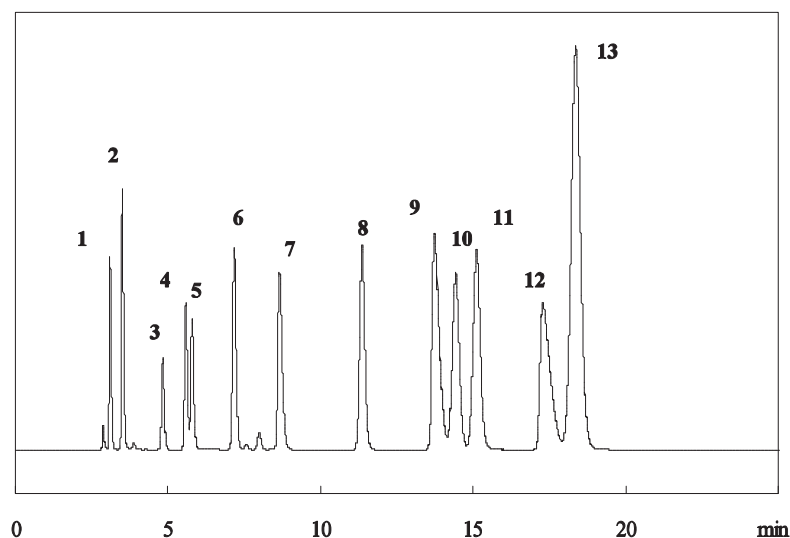
Samples

1 : oxalic acid	0.1 g/L
2 : L-tartaric acid	0.5 g/L
3 : formic acid	1.0 g/L
4 : L-malic acid	1.0 g/L
5 : L-ascorbic acid	0.1 g/L
6 : lactic acid	1.0 g/L
7 : acetic acid	1.0 g/L
8 : maleic acid	0.01 g/L
9 : citric acid	1.0 g/L
10 : succinic acid	1.0 g/L
11 : fumaric acid	0.025 g/L
12 : acrylic acid	0.1 g/L
13 : propionic acid	2.0 g/L
14 : glutaric acid	1.0 g/L
15 : itaconic acid	0.025 g/L

Inj. volume : 10 μ L

13 有机酸的分离(2)

以下数据为添加了 10%乙腈的流动相分离有机酸的实例。与 p.7 中的数据 12 相比,, 能够更好地分离出疏水性更强的有机酸。



Column : TSKgel ODS-100V 5 μ m
(4.6 mmI.D. \times 25 cm)

Eluent : 0.1 % $\text{H}_3\text{PO}_4/\text{CH}_3\text{CN} = 90/10$

Flow rate : 1.0 mL/min

Detection : UV (210 nm)

Temp. : 40 $^\circ\text{C}$

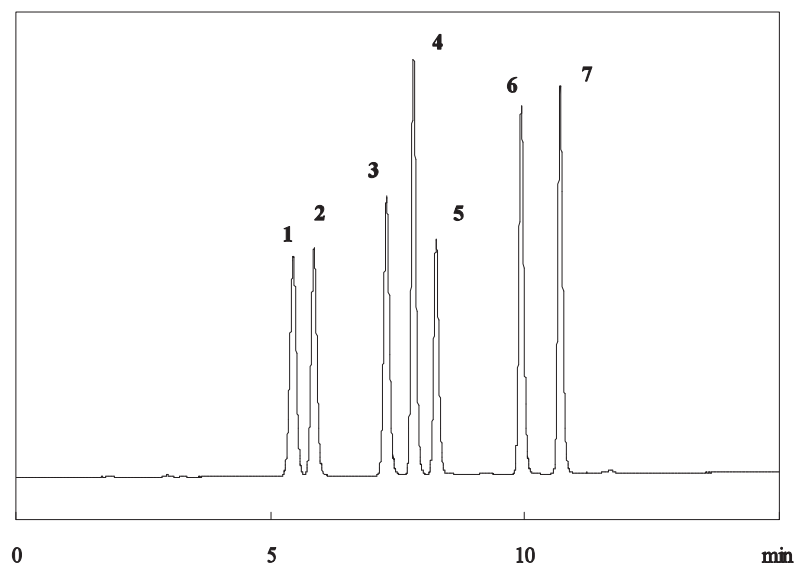
Samples

1 : glycolic acid	1.0 g/L
2 : malonic acid	1.0 g/L
3 : t-aconit acid	0.02 g/L
4 : citraconic acid	0.01 g/L
5 : levulinic acid	1.0 g/L
6 : mesaconic acid	0.02 g/L
7 : adipic acid	2.0 g/L
8 : crotonic acid	0.05 g/L
9 : N-butyric acid	5.0 g/L
10 : methacrylic acid	0.02 g/L
11 : amygdalic acid	0.05 g/L
12 : pimelic acid	2.0 g/L
13 : phthalic acid	0.1 g/L

Inj. volume : 10 μL

14 儿茶酚类物质的分离

茶叶中含有的大量儿茶酚类物质, 是一种多酚, 在体内起到抗氧化剂的作用而受到重视。使用 TSKgel ODS-100Z 5 μ m 色谱柱可以很好地分离出 6 种儿茶酚类物质和咖啡因。



Column : TSKgel ODS-100Z 5 μ m

(4.6 mmI.D. \times 15 cm)

Eluent : A ; 10 mmol/L KH_2PO_4 (pH2.5)
B ; CH_3OH

Gradient : 0 min 18 % B
15 min 60 % B

Flow rate : 1.0 mL/min

Detection : UV (270 nm)

Temp. : 40 $^\circ\text{C}$

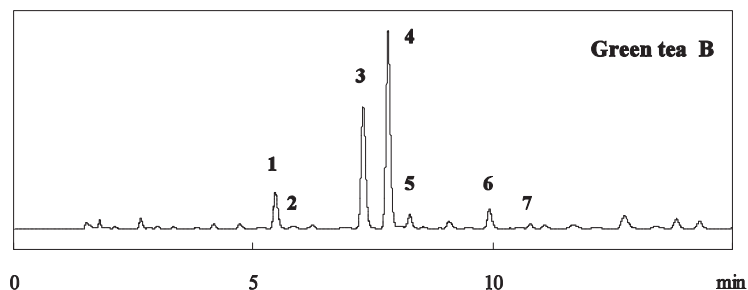
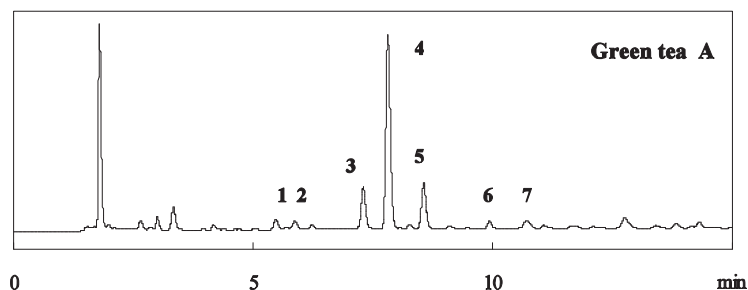
Samples

1 : (-)-epigallocatechin	175 mg/L
2 : (-)-catechin	87 mg/L
3 : (-)-epigallocatechin gallate	43 mg/L
4 : caffeine	217 mg/L
5 : (+)-epicatechin	87 mg/L
6 : (-)-epicatechin gallate	43 mg/L
7 : (-)-catechin gallate	43 mg/L

Inj. volume : 5 μL

15 绿茶中儿茶酚类物质的分离

以下数据为分析绿茶中儿茶酚类物质的例子。样品为茶叶经热水抽提后、稀释并过滤所得。



Column : TSKgel ODS-100Z 5 μ m
(4.6 mm I.D. \times 15 cm)
Eluent : A ; 10 mmol/L KH_2PO_4 (pH 2.5)
B ; CH_3OH
Gradient : 0 min 18 % B
15 min 60 % B
Flow rate : 1.0 mL/min
Detection : UV (270 nm)
Temp. : 40 $^\circ\text{C}$

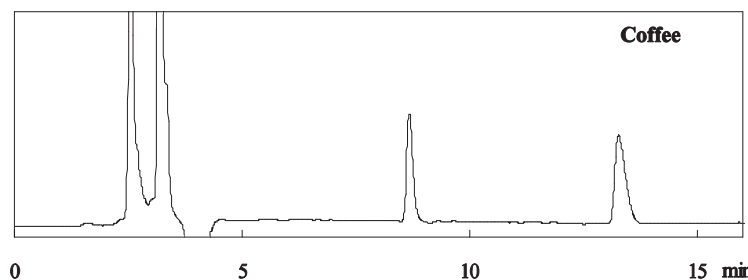
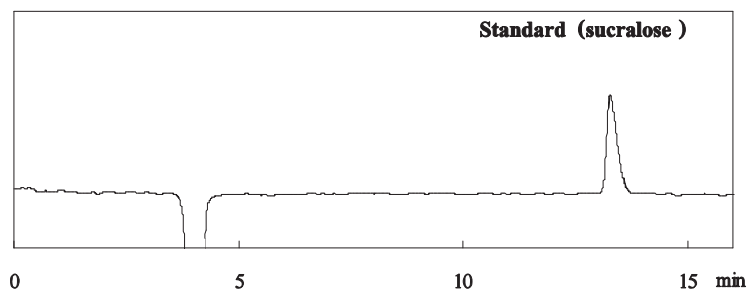
Samples : green tea A, B

Compounds	green tea A	green tea B
1 : (-)-epigallocatechin	12.8 mg/L	439.5 mg/L
2 : (-)-catechin	6.5 mg/L	23.6 mg/L
3 : (-)-epigallocatechin gallate	12.4 mg/L	336.9 mg/L
4 : caffeine	222.3 mg/L	2087.3 mg/L
5 : (+)-epicatechin	3.1 mg/L	102.2 mg/L
6 : (-)-epicatechin gallate	2.2 mg/L	49.2 mg/L
7 : (-)-catechin gallate	2.8 mg/L	8.9 mg/L

Inj. volume : 5 μ L

16 咖啡中的甜味剂（三氯蔗糖）的分离

三氯蔗糖是一种白色粉末，具有氯原子取代蔗糖三羟基的结构。三氯蔗糖是零热量的甜味剂，甜度为蔗糖的 600 倍。由于其具有与砂糖相似的甜味及热稳定性，1999 年在日本被指定为食品添加剂，并应用于饮料和糖果等生产中。下列数据为依照日本卫生试验法·食品添加剂试验法对三氯蔗糖进行分析的实例。



Column : TSKgel ODS-100V 5 μ m
(4.6 mm I.D. \times 25 cm)
Eluent : $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN}$ = 85/15
Flow rate : 1.0 mL/min
Detection : RI
Temp. : 40 $^\circ\text{C}$

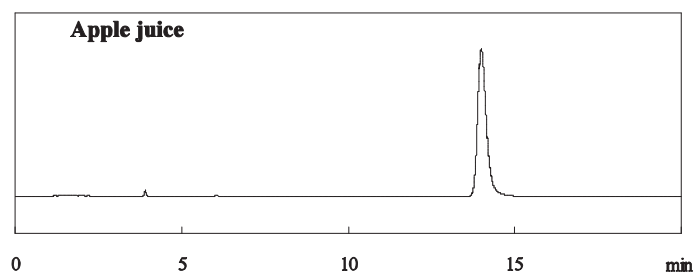
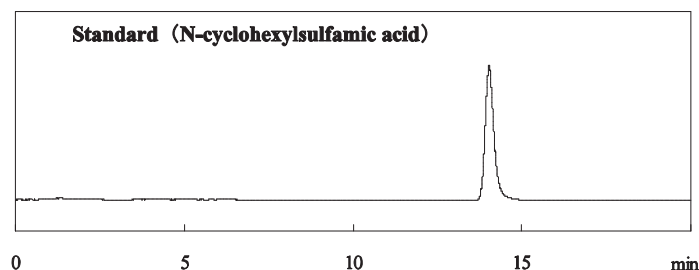
Samples : coffee
(sucralose 200 μ g/g added)

Compound : sucralose
Concentration : standard 1 g/L
sample 740 mg/L
Inj. volume : 50 μ L

*: 样品前处理方法请参照 p.16。

17 苹果汁中的甜味剂（环己基氨基磺酸：甜蜜素）的分离

环己基氨基磺酸又称为甜蜜素,在日本从 1956 年开始被作为甜味剂使用。但是其致癌性在美国招到质疑后,1969 年开始被禁止使用。由于在中国和欧洲诸国到现在为止还没有被禁止使用,因此有时仍会在相关商品中检测到。下列数据是依据日本卫生试验法·食品添加剂试验法对环己基氨基磺酸进行分析的实例。



Column : TSKgel ODS-100V 5 μ m
(4.6 mm I.D. \times 25 cm)

Eluent : H₂O/CH₃CN = 30/70

Flow rate : 1.0 mL/min

Detection : UV (314 nm)

Temp. : 40 $^{\circ}$ C

Sample : apple juice (N-cyclohexylsulfamic acid 500 μ g/g added)

Compound : N-cyclohexylsulfamic acid

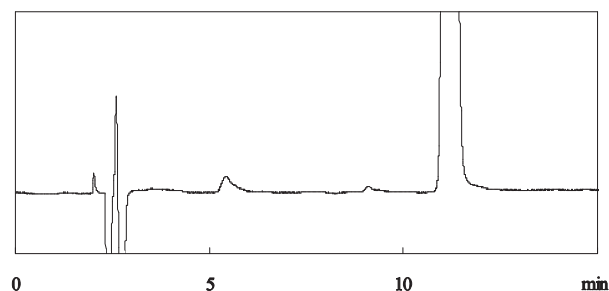
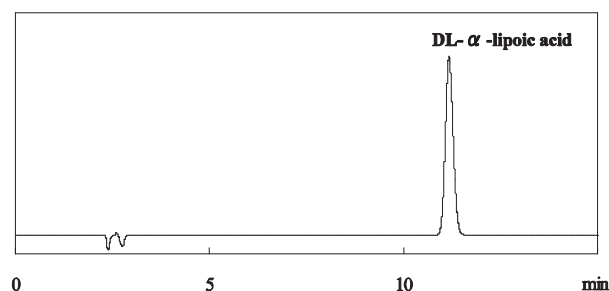
Concentration : standard 200 mg/L
sample 237 mg/L

Inj. volume : 10 μ L

*: 样品前处理方法请参照p.16。

18 DL- α -硫辛酸的分离(1)

DL- α -硫辛酸具有烷烃链（末端为羧酸）结合在含两个硫原子的五元环的结构。由于其抗氧化能力强，且有促进糖代谢的功能，因此被认为对减肥有效。下列数据为使用反相色谱法对 α -硫辛酸进行分离的例子。下面的谱图为放大后的分析结果。



Column : TSKgel ODS-100Z 5 μ m
(4.6 mm I.D. \times 25 cm)

Eluent : 5 mmol/L NaH₂PO₄ (pH3.0)
/CH₃CN/CH₃OH = 920/180/1160

Flow rate : 1.2 mL/min

Detection : UV (215 nm)

Temp. : 35 $^{\circ}$ C

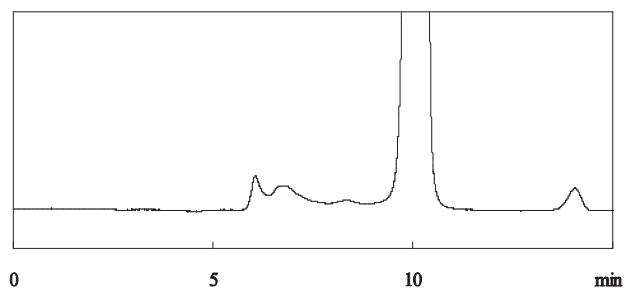
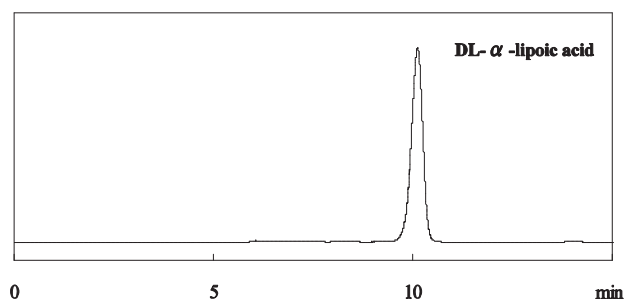
Sample : DL- α -lipoic acid (thioctic acid)

Concentration : 1 g/L

Inj. volume : 20 μ L

19 DL- α -硫辛酸的分离(2)

下图为利用尺寸排除色谱法进行 α -硫辛酸分离的例子。下面的谱图为放大后的分析结果。



Column : TSKgel G1000H_{XL}
(7.8 mmI.D. × 30 cm) +
TSKguardcolumnH_{XL}-L
(6.0 mmI.D. × 4 cm)

Eluent : 10 mmol/L LiBr, 20 mmol/L H₃PO₄ in
DMF

Flow rate : 0.9 mL/min

Detection : UV (300 nm)

Temp. : 40 °C

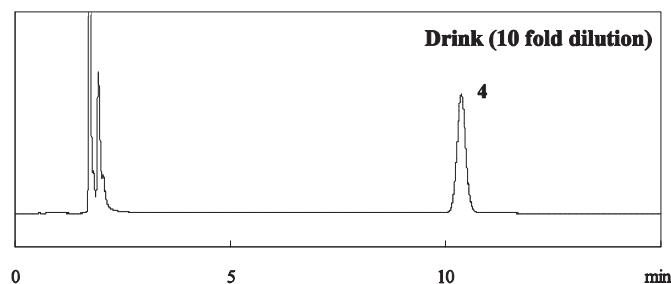
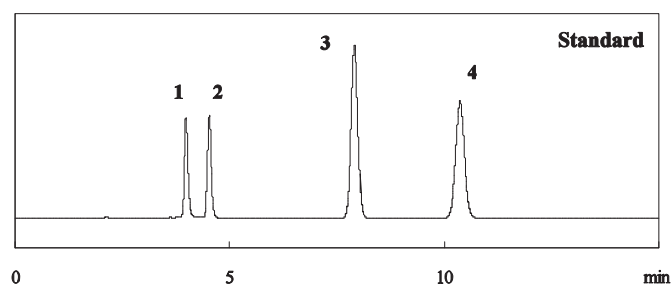
Samples : DL- α -lipoic acid (thioctic acid)

Concentration : 30 g/L

Inj. volume : 10 μ L

20 饮料中辅酶 Q10 的分离

辅酶 Q10 具有辅助机体产生能量的作用，也可称为维生素 Q、泛醌等，作为食品增补剂受到广泛重视。辅酶 Q10 为脂溶性物质，在反相色谱分析中保留时间很长，因此可以使用添加有 THF 的流动相进行测定。在这样的分析条件下，还可以同时分析辅酶 Q9 和生育酚（维生素 E）等物质。



Column : TSKgel ODS-100V 5 μ m
(4.6 mmI.D. × 15 cm)

Eluent : THF/CH₃CN = 20/80

Flow rate : 1.0 mL/min

Detection : UV (270 nm)

Temp. : 40 °C

Samples : health drink
(RoyalQ10 ; CoQ10 30 g/50 L)

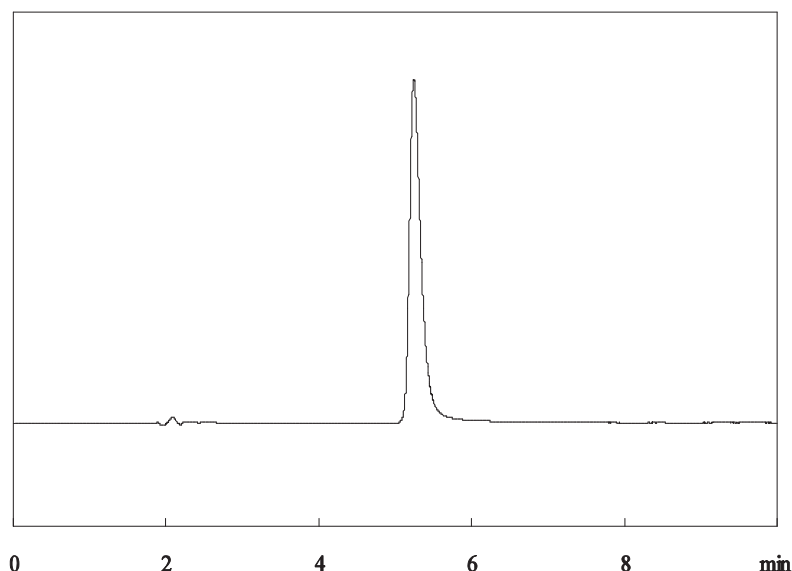
Compounds in Standard

1 : γ -tocopherol	0.06 g/L
2 : α -tocopherol	0.06 g/L
3 : ubiquinone-9 (Coenzyme Q9)	0.25 g/L
4 : ubiquinone-10 (Coenzyme Q10)	0.25 g/L

Inj. volume : 10 μ L

21 葡萄糖酸氯己定的分离

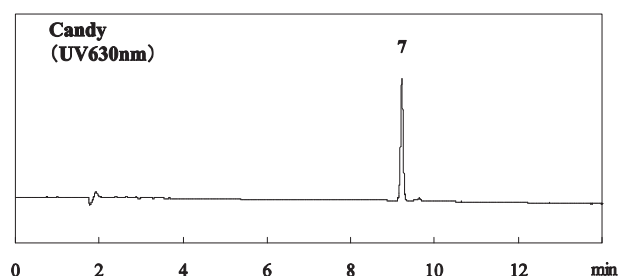
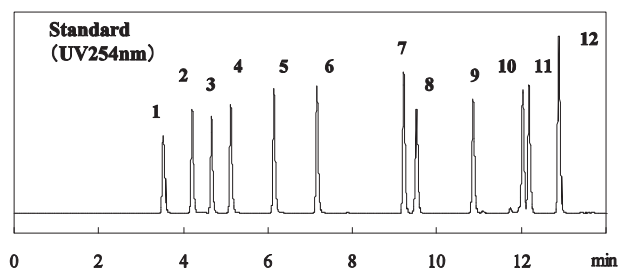
葡萄糖酸氯己定是一种抗菌范围广、抗菌性强、并具有卓越的持久性杀菌作用的抗菌剂。广泛应用于化妆品、漱口水等产品中。在日本卫生试验法·化妆品试验法的记载中介绍了流动相里添加 SDS（阴离子性表面活性剂）进行葡萄糖酸氯己定的分析方法，但是下列数据位不添加 SDS、在酸性条件下进行葡萄糖酸氯己定分离的实例。



Column : TSKgel ODS-100V 5 μ m
(4.6 mm I.D. \times 15 cm)
Eluent : 10 mmol/L HCOONH₄ (pH3.5)
/CH₃CN = 67/33
Flow rate : 1.0 mL/min
Detection : UV (258 nm)
Temp. : 40 $^{\circ}$ C
Samples : chlorhexidine gluconate
Concentration : 0.05 g/L
Inj. volume : 5 μ L

22 糖果中食用色素的分离

着色剂大致可以分为合成色素和天然色素两类。合成色素的大多数是焦油色素，并有 3000 种以上，但是很少作为食用着色剂使用。1960 年的时候，有 24 种焦油色素在日本被批准使用。但是由于存在潜在致癌性等原因，目前只有 12 种焦油色素被允许使用。以下数据是对从某种糖果中提取到的色素进行分析的实例。通过改变检测波长可以对不同颜色的色素进行高选择性的检测



Column : TSKgel ODS-100V 5 μ m
(4.6 mm I.D. \times 15 cm)
Eluent : A ; 10 mmol/L CH₃COONH₄
B ; CH₃CN
Gradient : 0 min 5 % B
20 min 70 % B
Flow rate : 1.0 mL/min
Detection : UV (254/630 nm)
Temp. : 40 $^{\circ}$ C

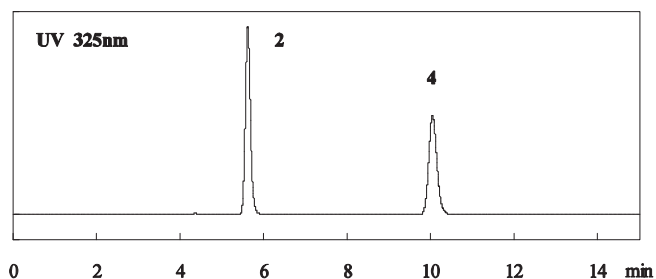
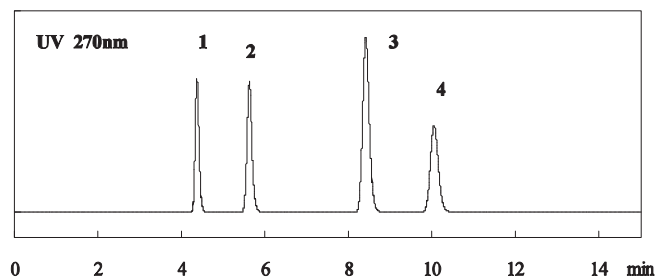
Samples

1 : Food Yellow No.4	10 g/L
2 : Food Red No.2	25 g/L
3 : Food Blue No.2	20 g/L
4 : Food Red No.102	25 g/L
5 : Food Yellow No.5	25 g/L
6 : Food Red No.40	25 g/L
7 : Food Green No.3	100 g/L
8 : Food Blue No.1	100 g/L
9 : Food Red No.3	25 g/L
10 : Food Red No.104	25 g/L
11 : Food Red No.106	20 g/L
12 : Food Red No.105	50 g/L

Inj. volume : 5 μ L

23 绿原酸的分离

绿原酸（3-咖啡酰奎宁酸）具有与儿茶素、类黄酮等相似的抗氧化作用。咖啡豆中大量含有该物质。



Column : TSKgel ODS-100Z 5 μ m
(4.6 mmI.D. \times 15 cm)

Eluent : 10 mmol/L HCOONH₄ (pH3.5)
/ CH₃CN = 90/10

Flow rate : 1.0 mL/min

Detection : UV (270/325 nm)

Temp. : 40 $^{\circ}$ C

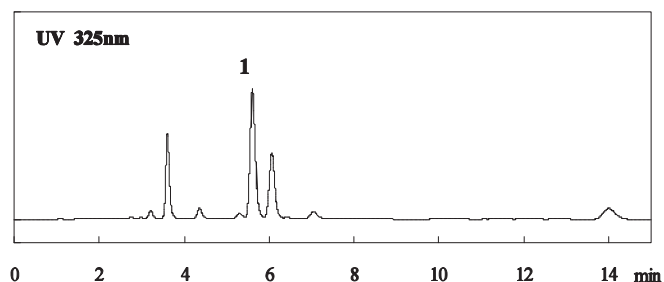
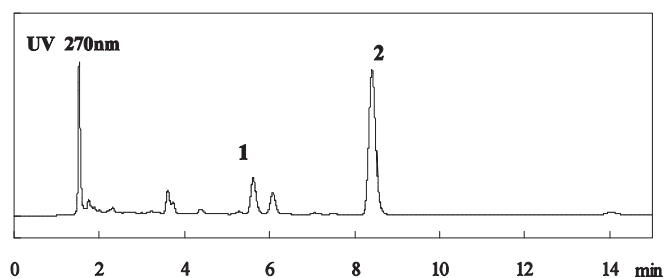
Samples

1 : protocatechuric acid	0.05 g/L
2 : chlorogenic acid	0.2 g/L
3 : caffeine	0.1 g/L
4 : caffeic acid	0.1 g/L

Inj. volume : 5 μ L

24 咖啡中绿原酸的分离

咖啡豆热水抽提稀释后，可直接进行测定。通过紫外可视光检测器选择适当的波长，可以选择性地、高灵敏度地分离分析绿原酸和咖啡酸。



Column : TSKgel ODS-100Z 5 μ m
(4.6 mmI.D. \times 15 cm)

Eluent : 10 mmol/L HCOONH₄ (pH3.5)
/ CH₃CN = 90/10

Flow rate : 1.0 mL/min

Detection : UV (270/325 nm)

Temp. : 40 $^{\circ}$ C

Samples : coffee 8 g

Compound : 1 ; chlorogenic acid	0.06 g/L
2 ; caffeine	0.09 g/L

Inj. volume : 5 μ L

* 样品前处理

样品, 8 g

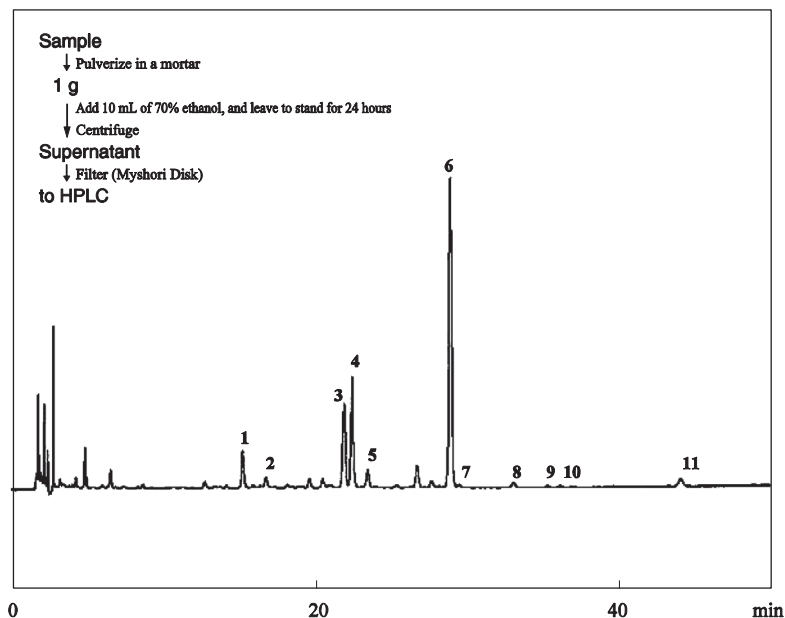
↓ 加100 mL热水煮沸10分钟

↓ 用流动相稀释10倍

HPLC分析

25 大豆提取液中异黄酮类的分离

大豆中含有大量的异黄酮，其具有类似雌性激素的作用。大豆异黄酮预防更年期障碍及衰老等的效果受到广泛关注。下图为分析大豆乙醇抽提液的实例。



Column : TSKgel ODS-100V 5 μ m
(4.6 mm I.D. \times 15 cm)
Eluent : A) 0.1 % acetic acid in 10 % CH₃CN
B) 0.1 % acetic acid in 35 % CH₃CN
Gradient : 0 min 0 % B
50 min 100 % B
Flow rate : 1.0 mL/min
Detection : UV (260 nm)
Temp. : 40 °C

Samples

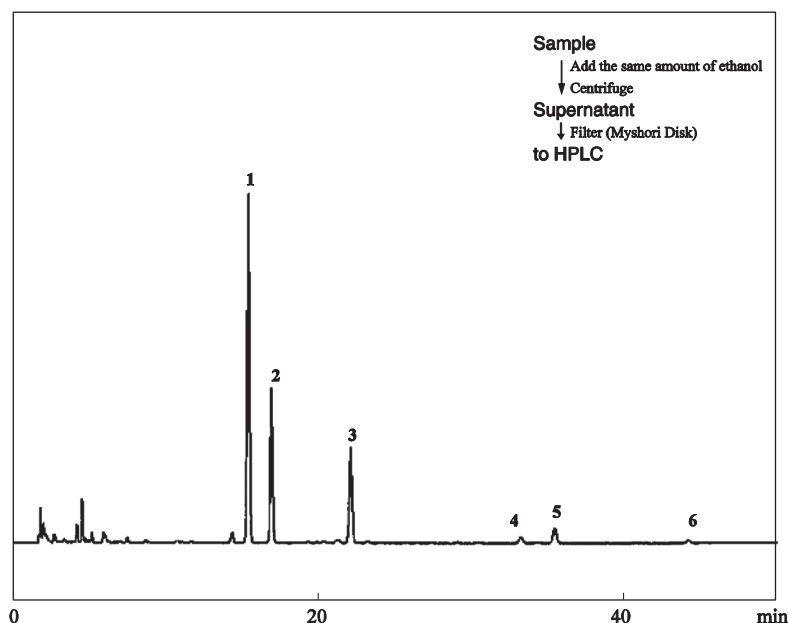
1 : daidzin	0.94 mg/L	7 : malonylgenistin	0.08 mg/L
2 : glycitin	0.35 mg/L	8 : daidzein	0.15 mg/L
3 : genistin	2.06 mg/L	9 : glycitein	0.05 mg/L
4 : malonyldaidzin	2.86 mg/L	10 : acetylgenistin	0.07 mg/L
5 : malonylglycitin	0.84 mg/L	11 : genistein	0.20 mg/L
6 : acetyldaidzin	8.79 mg/L		

Inj. volume : 10 μ L

*: 样品前处理 (参见图表中所示)

26 大豆饮料中异黄酮类物质的分离

下图为大豆健康饮料中异黄酮类物质的分析实例。



Column : TSKgel ODS-100V 5 μ m
(4.6 mm I.D. \times 15 cm)
Eluent : A) 0.1 % acetic acid in 10 % CH₃CN
B) 0.1 % acetic acid in 35 % CH₃CN
Gradient : 0 min 0 % B
50 min 100 % B
Flow rate : 1.0 mL/min
Detection : UV (260 nm)
Temp. : 40 °C

Sample : soybean beverage
Compounds

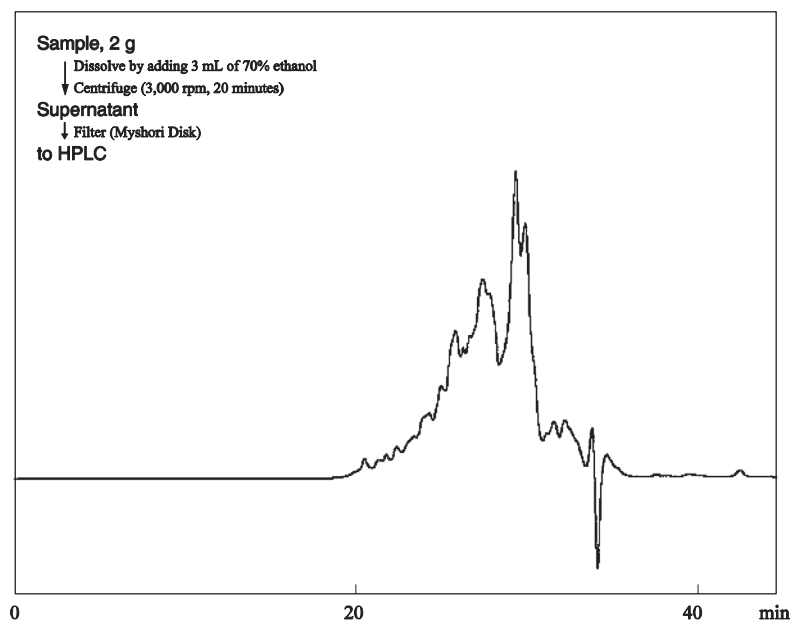
1 : daidzin	23.66 mg/L	4 : daidzein	0.54 mg/L
2 : glycitin	11.53 mg/L	5 : glycitein	1.23 mg/L
3 : genistin	6.29 mg/L	6 : genistein	0.18 mg/L

Inj. volume : 10 μ L

*: 样品前处理 (参见图表中所示)

27 大豆多肽果冻饮料提取液的分离

大豆多肽是大豆蛋白酶解后产生的物质，具有不同的结构和分子量分布。以下数据为利用 SEC 对大豆多肽果冻饮料提取液分析的实例。



Column : TSKgel G2000SW_{XL} × 3
(7.8 mm I.D. × 30 cm × 3)

Eluent : 0.1 % TFA + 45 % CH₃CN

Flow rate : 1.0 mL/min

Detection : UV (215 nm)

Temp. : 30 °C

Sample : soy peptide beverage

Compound : soy peptide

Inj. volume : 50 μL

*: 样品前处理 (参见图表中所示)

1 三氯蔗糖（数据 16）— 依照日本食品添加剂试验法 —

前处理操作：

- 1) 将样品 20g 与透析内液 20mL 混合后装入透析膜
- 2) 将透析膜吊在 200mL 的量筒内，加入透析外液使全部液体量达到 200mL
- 3) 用搅拌器搅拌，在室温下静置 24 小时
- 4) 取透析外液 40mL，并加载到固相萃取柱上
- 5) 固相萃取柱用 10mL 水、0.2 mol/L NaOH 5mL、水 10mL 淋洗
- 6) 用 5mL 甲醇洗脱，且用氮气干燥后，用 1mL 水溶解
- 7) 溶解液用过滤膜（孔径 0.45um）过滤后，测定

透析内液：0.01 mol/L HCl + 100 g/L NaCl

透析外液：0.01 mol/L HCl

固相萃取柱：OnGuard-RP (Dionex) 3 根串联

透析膜：人造肠衣管 直径 23.8 mm

2 环己基氨基磺酸（数据 17）— 依照日本食品添加剂试验法

前处理操作：

- 1) 将样品 20g 与透析辅助液 20mL 混合后装入透析膜
- 2) 将透析膜吊在 200mL 的量筒内，加入透析辅助液使全部液体量达到 200mL
- 3) 用搅拌器搅拌，在室温下静置 48 小时
- 4) 取 25mL 透析外液，加入 0.1 mol/L TBA 溶液 5mL、0.2 mol/L 磷酸缓冲液(pH 6.0)20mL 混合后作为样品溶液
- 5) 加载到固相萃取柱上，用 30mL 水淋洗
- 6) 使用乙腈/水（70/30）溶液 10mL 洗脱，并用分液漏斗收集
- 7) 分液漏斗中加入 50% 的H₂SO₄ 2 mL、5mL己烷、1 mL NaClO₄后，振荡 1 分钟
- 8) 除去水相后，己烷相中加入 5% 的NaHCO₃ 25 mL后振荡
- 9) 除去水相后，用 HPLC 测定己烷相

透析辅助液：0.02 mol/L NaOH

固相萃取柱：Bond Elute Jr. C18 (Varian) 4 根串联

透析膜：人造肠衣管，直径 23.8 mm

索引

样品名	页码	数据号
A		
acetic acid	7	12
acetylaidzin	14	25
acetylgenistin	14	25
t-aconit acid	8	13
acrylic acid	7	12
Adenine	4	6
	5	7
adenosine	5	8
adipic acid	8	13
ADP	6	9, 10
	7	11
AMP.....	6	9, 10
	7	11
amygdalic acid	8	13
iso-ascorbic acid	4	5
L-ascorbic acid	2	1
	3	3, 4
	4	5
	7	12
ATP	6	9, 10
	7	11
B		
N-butyric acid.....	8	13
C		
caffeic acid	13	23
Caffeine	3	3
	8	14
	9	15
	13	23, 24
(-) -catechin	8	14
	9	15
(-) -catechin gallate	8	14
	9	15
CDP.....	7	11
chlorhexidine gluconate	12	21
chlorogenic acid.....	13	23, 24
cholecalciferol	2	2

样品名	页码	数据号
citraconic acid	8	13
citric acid.....	7	12
CMP.....	6	9, 10
	7	11
coenzyme Q10	11	20
crotonic acid	8	13
CTP	7	11
cyanocobalamin.....	3	4
N-cyclohexylsulfamic acid	10	17
cytidine	5	8
cytosine	4	6
	5	7
D		
daidzein	14	25, 26
daidzin.....	14	25, 26
dAMP	6	9, 10
	7	11
2'-deoxyadenosine	5	8
2'-deoxycytidine.....	5	8
2'-deoxyguanosine	5	8
2'-deoxyinosine	5	8
dGMP	7	11
dUMP	7	11
E		
(+) -epicatechin	8	14
	9	15
(-) -epicatechin gallate	8	14
	9	15
(-) -epigallocatechin	8	14
	9	15
(-) -epigallocatechin gallate	8	14
	9	15
ergocalciferol	2	2
erythorbic acid	4	5
F		
folic acid	3	4
Food Blue No.1	12	22
Food Blue No.2	12	22
Food Green No.3	12	22
Food Red No.102	12	22

样品名	页码	数据号	样品名	页码	数据号
Food Red No.104	12	22	DL- α -lipoic acid	10	18
Food Red No.105	12	22		11	19
Food Red No.106	12	22	M		
Food Red No.2	12	22	maleic acid	7	12
Food Red No.3	12	22	L-malic acid	7	12
Food Red No.40	12	22	malonic acid	8	13
Food Yellow No.4	12	22	malonyldaidzin	14	25
Food Yellow No.5	12	22	malonylgenistin	14	25
formic acid	7	12	malonylglycitin	14	25
fumaric acid	7	12	menadione	2	2
G			menaquinone	2	2
GDP.....	6	9, 10	mesaconic acid	8	13
	7	11	methacrylic acid.....	8	13
genistein	14	25, 26	N		
genistin	14	25, 26	nicotinamide	2	1
glutaric acid	7	12		3	4
glycitein	14	25, 26		4	5
glycitin	14	25, 26	nicotinic acid	2	1
glycolic acid	8	13		3	3, 4
GMP	6	10		4	5
	7	11	O		
GTP	6	10	oxalic acid	7	12
	7	11	P		
guanine	4	6	pantothenic acid	3	4
	5	7	phthalic acid	8	13
guanosine	5	8	phyloquinone.....	2	2
H			pimelic acid.....	8	13
hypoxanthine	5	7	propionic acid.....	7	12
I			protocatechuric acid	13	23
IDP	6	10	pyridoxal	2	1
	7	11		3	3, 4
IMP	6	9, 10		4	5
	7	11	pyridoxine	2	1
inosine.....	5	8		3	3, 4
itaconic acid	7	12		4	5
ITP	6	10	pyridoxamine	3	4
	7	11	R		
L			retinol	2	2
lactic acid	7	12		3	3
levulinic acid	8	13			

样品名	页码	数据号
riboflavin	3	3, 4
	4	5
riboflavin phosphate sodium salt ...	3	4
S		
soy peptides	15	27
succinic acid	7	12
sucralose	9	16
T		
L-tartanic acid	7	12
TDP	6	9, 10
	7	11
thiamine	2	1
	3	3, 4
thioctic acid.....	10	18
	11	19
Thymidine.....	5	8
thymine	4	6
	5	7
TMP.....	6	9, 10
	7	11
α-tocopherol	2	2
	3	3
	11	20
γ-tocopherol	11	20
δ-tocopherol	2	2
	3	3
α-tocopherol acetate	2	2
	3	3
TTP	7	11
U		
ubiquinone-10	11	20
ubiquinone-9	11	20
UDP.....	6	9, 10
	7	11
UMP.....	6	9, 10
	7	11
uracil	4	6
	5	7
uridine	5	8

样品名	页码	数据号
UTP	6	9, 10
	7	11
X		
xanthine.....	5	7



TOSOH

**TOSOH CORPORATION
BIOSCIENCE DIVISION**

Address: Shiba-Koen First Bldg. 3-8-2 Shiba,
Minato-Ku, Tokyo 105-8623, Japan
TEL: +81-3-5427-5180 FAX: +81-3-5427-5220
E-mail: hlc@tosoh.co.jp
Website: www.separations.asia.tosohbioscience.com
HLC database: www2.tosoh.co.jp/hlc/hlcdb.nsf/StartE?OpenForm

TOSOH BIOSCIENCE LLC

Address: 3604 Horizon Drive, Suite 100 King of Prussia, PA 19406, USA
TEL: +1-484-805-1219 FAX: +1-610-272-3028
E-mail: info.tbl@tosoh.com
Website: www.tosohbioscience.com

TOSOH BIOSCIENCE GmbH

Address: Zettachring 6, 70567 Stuttgart, Germany
TEL: +49-711-13257-0 FAX: +49-711-13257-89
E-mail: Info.sep.eu@tosohbioscience.com
Website: www.tosohbioscience.com

TOSOH ASIA PTE. LTD

Address: 63 Market Street #10-03 Singapore 048942
TEL: +65-6226-5106 FAX: +65-6226-5215
E-mail: Info.tsas@tosoh.com
Website: www.separations.asia.tosohbioscience.com

东曹（上海）生物科技有限公司

地址：上海市徐汇区宜山路1289号B座3F, 301室
电话：+86-21-3461-0856 传真：+86-21-3461-0858
电邮： info@tosoh.com.cn
网址： www.separations.asia.tosohbioscience.com

HLC、TSK-GEL、TSKgel、BioAssist、EcoSEC、Enantio、Enviro pak、TOYOPEARL、TOYOPEARL MegaCap、ToyoScreen、TOYOPEARLPAK 和 TOYOPAK 均是 TOSOH 公司的注册商标。

未经 TOSOH 公司书面同意，本产品目录中的内容不得全部或部分使用或复制。
产品目录的内容可能会随时发生更改，恕不另行通知。
TOSOH 公司版权所有

