

乳酸 (LA) 含量检测试剂盒 (高效液相色谱法HPLC)

产品货号: BA2195

产品规格: 50T/48S

产品简介:

乳酸是以玉米淀粉为原料, 经过生物发酵精制而成的一种有机酸, 为无色澄清粘性液体, 水溶液显酸性反应。与水、乙醇或乙醚能任意混合, 在氯仿中不溶。因其左旋的特征, 具有很好的生物相融性, 能与哺乳动物相融, 可直接参与人体代谢、无任何副作用, 被广泛应用于食品、医药等领域。

乳酸在210nm下有吸收峰, 可以利用高效液相色谱法测定其含量。

试验中所需的仪器和试剂:

高效液相色谱仪(Polaris C18-A色谱柱(4.6×250mm)、紫外检测器(VWD)、台式离心机、可调式移液枪、研钵/匀浆器、EP管(2mL)、针头式过滤器(水系)、注射器、抽滤器、滤膜(水系、有机系)、棕色进样瓶(50个, 1.5mL)、超纯水。

产品内容:

提取液: 液体80mL×1瓶, 2-8°C保存。

试剂一: 液体2mL×1瓶, 2-8°C保存。

试剂二: 粉剂×2瓶, 2-8°C保存。

标准品: 粉剂×1瓶, -20°C避光保存。临用前加入2mL蒸馏水配制成10mg/mL乳酸标准溶液, 2-8°C密封保存, 避免阳光直射。

实验前准备工作:

1. 将1瓶试剂二溶解到1000mL超纯水中, 再加入0.9mL的试剂一, 混匀, 得到流动相A。
2. 将1000mL配制好的流动相A用滤膜抽滤。(配制好的流动相A采用0.22μm水系滤膜抽滤)
3. 将抽滤好的流动相A超声20min, 除去气泡。
4. 标准品的配制: 将10mg/mL的乳酸标准溶液采用倍比稀释的方法分别用蒸馏水稀释成2500μg/mL、1250μg/mL、625μg/mL、62.5μg/mL、31.25μg/mL的乳酸标准溶液(配制的标准品浓度仅供参考, 可根据实际样品浓度进行调整)。4°C避光保存(密封), 测试前采用水系针头式过滤器过滤到棕色进样瓶内, 待测。

操作步骤:

一、乳酸的提取:

按质量(g):提取液体积(mL)1:5~10比例, 建议称取0.15g新鲜样本, 充分研磨碾碎, 加入1mL提取液, 密封, 混合均匀, 置于75°C水浴锅中浸取20min。12000rpm离心10min, 取上清液, 在滤渣中再次加入0.5mL的提取液, 震荡混匀, 75°C水浴锅中浸取20min。混合两次提取的提取液, 12000rpm离心10min, 取上清液, 测试前采用水针头式过滤器过滤到棕色进样瓶内, 待测(若上清液颜色过深或者浓度过高, 可稀释后再次过滤待测)。

二、测定步骤:

1. 开启电脑、打开液相色谱仪各模块开关按钮, 安装上色谱柱, 打开软件, 在方法组中设置进样量为10μL, 柱温: 30°C, 流速为0.4mL/min, 波长为210nm, 走样时间25min, 设置完毕保存方法组。
2. 采用相应的流动相清洗柱子, 用流动相A平衡柱子, 待基线稳定后开始加样。
3. 检测待测的标准品溶液, 进样量为10μL, 在25min内可分离出乳酸, 乳酸的保留时间为12.3min左右(体系、柱子、流动相pH、温度等不同, 保留时间有差异, 仅作为参考)。
4. 检测待测的样品溶液, 进样量为10μL, 在相应的保留时间处检测乳酸的峰面积。

三、乳酸含量计算



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

QQ: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com

以标准品浓度($\mu\text{g/mL}$)为横坐标, 峰面积为纵坐标绘制乳酸的标准曲线, 将样本的峰面积代入标准曲线, 计算提取液中乳酸的浓度 $x(\mu\text{g/mL})$ 。

$$\text{乳酸的含量}(\mu\text{g/g})=x \times V_{\text{提取}} \div W=1.5x \div W$$

$V_{\text{提取}}$: 提取液的体积, 1.5mL; W : 样本质量, g; 稀释后测试的样本, 需要乘以相应的稀释倍数, 再进行计算。

注意事项:

1. 测试完毕后, 需要用高浓度的超纯水相冲洗色谱柱(约 20-30 个柱体积), 以防阻塞色谱柱, 再用高浓度的有机相冲洗色谱柱, 最后按柱子的种类规范冲洗, 防止损伤色谱柱。
2. 标准品的稀释倍数要根据样品中乳酸的浓度确定, 样品中乳酸的峰面积必须在不同浓度的标准品溶液的峰面积之内, 该标准品的稀释倍数只是一个参考。若样本中乳酸浓度过高, 建议可稀释后再测。
3. 若样本量过大, 建议每天测试一次标准溶液(一个标准溶液即可), 以确定相应的保留时间, 所有待测溶液测试前须放置至室温状态。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com