

乙酸含量检测试剂盒

高效液相色谱法

注意:正式测定之前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定

规格:50T/48S

产品简介:

乙酸,也叫醋酸、冰醋酸,化学式 CH_3COOH ,是一种有机一元酸,为食醋内酸味及刺激性气味的来源。

乙酸在 210 nm 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(PolarisC18-A 色谱柱(4.6x250 mm), 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 80mLx1 瓶, 2-8℃ 保存。

试剂一:液体 2mLx1 瓶, 2-8℃ 保存。

试剂二:粉剂 x2 瓶, 2-8℃ 保存。

标准品:液体 1mLx1 支, 2-8℃ 保存, 8.75 mmol/mL 乙酸标准品。

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 0.22 μm 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 8.75 mmol/mL 的乙酸标准溶液用蒸馏水稀释成 175 $\mu\text{mol/mL}$ 、87.5 $\mu\text{mol/mL}$ 、17.5 $\mu\text{mol/mL}$ 、8.75 $\mu\text{mol/mL}$ 、1.75 $\mu\text{mol/mL}$ 、0.875 $\mu\text{mol/mL}$ 的乙酸标准溶液。(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℃ 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、乙酸的提取:

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℃ 水浴锅中浸取 20min。12000 rpm 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℃ 水浴锅中浸取 20min。混合两次提取的提取液,12000 rpm 离心 10min,取上清液,测试前采用水系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 10 μL ,柱温:30℃,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 10 μL ，在 25min 内可分离出乙酸，乙酸的保留时间 13min 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 10 μL ，在相应的保留时间处检测乙酸的峰面积。

三、乙酸含量计算：

以标准品浓度($\mu\text{mol/mL}$)为横坐标，峰面积为纵坐标绘制乙酸的标准曲线，将样本的峰面积代入标准曲线，计算样本中乙酸的浓度 x($\mu\text{mol/mL}$)。

乙酸的含量($\mu\text{mol/g}$)= $x \times V \text{ 提取} \div W = 1.5xx \div W$

V 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乙酸的浓度确定，样品中乙酸的峰面积必须要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。若样本中乙酸浓度过高，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。