

## 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50mL×1瓶, 2-8°C保存。

试剂二: 液体0.9mL×2支, 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. 将试剂二 0.9ml 加入到 974.1mL 超纯水中, 再加入 25mL 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 $\mu$ m 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 2500 $\mu$ g/mL、1250 $\mu$ g/mL、625 $\mu$ g/mL、62.5 $\mu$ g/mL、31.25 $\mu$ g/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 $\mu$ L, 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 10 $\mu$ L, 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)。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司  
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话:400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

4. 检测待测的样品溶液，进样量为 10 $\mu$ L，在相应的保留时间处检测乳酸的峰面积。

### 三、乳酸含量计算

以标准品浓度( $\mu$ 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( $\mu$ g/mL)。

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

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

**上海尚宝生物科技有限公司**  
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

<http://www.saint-bio.com>