

乙酸含量检测试剂盒说明书

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。

货号：AC10738

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(Polaris C18-A 色谱柱(4.6×250 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(2 mL)、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，1.5 mL)、超纯水。

产品内容：

提取液：液体 80mL ×1 瓶，2-8℃保存。

试剂一：液体 2 mL ×1 瓶，2-8℃保存。

试剂二：粉剂×2 瓶，2-8℃保存。

标准品：液体 1 mL×1 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 1000 mL 超纯水中，再加入 0.9 mL 的试剂一，混匀，得到流动相 A。
2. 将 1000 mL 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)。

产品仅供科研！



3. 将抽滤好的流动相 A 超声 20 min，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°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、乙酸的提取：

按质量(g):提取液体积(mL)1:5~10 比例，建议称取 0.15 g 新鲜样本，充分研磨碾碎，加入 1 mL 提取液，密封，混合均匀，置于 75°C 水浴锅中浸取 20 min。12000 rpm 离心 10 min，取上清液，在滤渣中再次加入 0.5 mL 的提取液，震荡混匀，75°C 水浴锅中浸取 20 min。混合两次提取的提取液，12000 rpm 离心 10 min，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°C，流速为 0.4 mL/min，波长为 210 nm，走样时间 25 min，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 25 min 内可分离出乙酸，乙酸的保留时间为 13 min 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 $x(\mu\text{mol/mL})$ 。

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

V 提取：提取液的体积，1.5 mL；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。

