



玉米黄素含量检测试剂盒

货号: R60210-50T/48S

产品简介:

玉米黄素又称“玉米黄质”、“玉米黄质素”,是叶黄素类脂溶性色素成分,为 β -胡萝卜素的二羟基衍生物。玉米黄素大量存在于绿色蔬菜、玉米种子、枸杞和酸浆果实等植物组织和一些非光合作用细菌中。

玉米黄素在450 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(C18 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、针头式过滤器(50个, 有机系, 0.45 μ m)、注射器、抽滤器、滤膜(有机系)、棕色进样瓶(50个, 1.5mL)、甲醇(色谱纯)、超纯水、二氯甲烷(色谱纯)、氯仿。

产品内容:

提取液: 液体60 mL×1 瓶, 2-8℃保存。易挥发物质, 用完及时密封。

标准品: 粉剂×1支, -20℃保存。临用前加入1mL 氯仿配制成2mg/mL 玉米黄素标准品, -20℃ 密封保存1周, 避免阳光直射。

实验前准备工作:

1. 将500mL 色谱纯甲醇(流动相B) 和500mL 二氯甲烷(流动相A) 用有机系滤膜抽滤, 除去溶剂中杂质, 以防堵塞色谱柱。
2. 将抽滤好的流动相A、B 超声20 min, 备用。
3. 标准品的配制: 将2mg/mL 的玉米黄素标准品用氯仿稀释成0.1mg/mL、0.05mg/mL、0.01mg/mL、0.005 mg/mL、0.001 mg/mL的玉米黄素标准品。(配制的标准品浓度仅供参考, 可根据实际样本浓度进行调整)-20℃保存(密封), 测试前采用有机系针头式过滤器过滤到棕色进样瓶内, 待测



(测试前请提前放置至常温状态, 以免对保留时间造成影响)。

操作步骤:

一、玉米黄素的提取

按质量 (g): 提取液体积 (mL) 1:5~10 比例, 建议称取 0.1 g 样本, 若为叶片去主叶脉, 充分碾碎, 然后加入 1 mL 提取液, 混合均匀, 称重, 研磨/匀浆, 再次称重, 补齐失重, 密封, 然后放入置于黑暗条件或者包上锡箔纸常温震荡浸取 4h。常温条件下 10000 rpm 离心 10min, 取上清液(若上清液中仍有固体样本可再次离心), -20℃ 保存(密封), 测试前采用有机系针头式过滤器过滤到棕色进样瓶内, 待测(测试前放置至常温状态, 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 μ L, 柱温: 30℃, 流速为 0.5 mL/min, 波长为 450 nm, 走样时间 15 min, 设置完毕保存方法组。

2. 采用相应的流动相清洗柱子, 采用流动相 B: 流动相 A=95:5 比例的流动相平衡柱子, 待基线稳定后开始加样。

3. 检测待测的标准品, 进样量为 10 μ L, 在 15min 内可分离玉米黄素, 玉米黄素的保留时间为 7.5 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. 检测待测的样本溶液, 进样量为 10 μ L, 在相应的保留时间处检测玉米黄素的峰面积。

三、玉米黄素含量计算

以标准品浓度 (mg/mL) 为横坐标, 峰面积为纵坐标绘制玉米黄素的标准曲线, 将样本的峰面积代入标准曲线, 计算提取液中玉米黄素的浓度 x(mg/mL)。

$$\text{玉米黄素的含量 (mg/g)} = x \times V_{\text{提取}} \div W = x \div W$$



V 提取: 提取液的体积, 1mL; 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, 需要用高浓度的二氯甲烷冲洗色谱柱(约20-30个柱体积), 以防阻塞色谱柱, 再用高浓度的甲醇冲洗色谱柱, 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本中玉米黄素的浓度确定, 样本中玉米黄素的峰面积必须在不同浓度的标准品的峰面积之内, 该标准品的稀释倍数只是一个参考。若样本中玉米黄素浓度过高, 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品(一个标准品即可), 以确定相应的保留时间, 所有待测溶液测试前须放置至常温状态。