

芹菜素含量检测试剂盒（高效液相色谱法HPLC）

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。

产品货号：BA2193

产品规格：50T/48S

产品简介：

芹菜素是一种天然黄酮类物质，广泛存在于蔬菜、水果中。研究表明，芹菜素具有多种生物学功能，如抗氧化性、抗炎、抗肿瘤、中枢镇静等。芹菜素在270nm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（4.6×250mm），紫外检测器（VWD））、台式离心机、可调式移液枪、研钵/匀浆器、棕色EP管、针头式过滤器（50个，有机系，0.45μm），注射器，抽滤器，滤膜（有机系、水系），棕色进样瓶（50个，1.5mL）、乙腈（色谱纯，500mL）、超纯水、磷酸（分析纯）、甲醇（分析纯）、5mL白色塑料试剂瓶、2mL EP管。

产品内容：

1. 提取液一：液体90mL×1瓶，4℃保存。
2. 标准品：粉剂×1支，-20℃避光保存。临用前加入2mL甲醇配制成1mg/mL芹菜素标准溶液，4℃密封保存，避免阳光直射，若4℃密封保存后有固体析出，可50℃水浴中微热促进溶解。

实验前准备工作：

1. 将1.18mL磷酸加入到500mL超纯水中，充分混匀，得到流动相A。
2. 将500mL色谱纯乙腈（流动相B）和500mL配置好的流动相A用滤膜抽滤，除去溶剂中杂质，以防堵塞色谱柱。（乙腈采用0.45μm有机系滤膜抽滤，配置好的流动相A采用0.22μm水系滤膜抽滤）。
3. 将配制好的流动相A、B超声20min，除去溶剂中的气体，防止阻塞色谱柱，影响实验结果。
4. 标准品的配制：将1mg/mL的芹菜素标准溶液采用倍比稀释的方法分别用甲醇稀释成0.1mg/mL、0.05mg/mL、0.01mg/mL、0.005mg/mL、0.001mg/mL的芹菜素标准溶液（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℃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室温状态，以免对保留时间造成影响）。

操作步骤：

一、芹菜素的提取：

将供试的植物样本在60℃的鼓风烘箱中烘干，研磨成粉状，过20~40目筛。按质量（g）:提取液一（mL）1:10~20比例（建议称取0.15g烘干样品，加入1.5mL提取液一）加入到试剂瓶中，称重，混合均匀，然后放入80℃恒温水浴锅中，提取2h（建议使用丝口5mL塑料试剂瓶，拧紧，防止在加热过程中瓶口崩开）。冷却后再次称重，加入提取液一补齐差值。密封，放入超声清洗机中，室温（25~35℃，超声时要注意温度不可过高）条件下超声提取60min。然后将提取浊液转移到EP管中，4℃条件下10000rpm离心10min，取上清液（若上清液中仍有固体样本可再次离心），4℃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（测试前放置至室温状态，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10μL，



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

柱温：30°C，流速为0.8mL/min，波长为270nm，洗脱程序如下表，走样时间70min，设置完毕保存方法组。

2. 采用相应的流动相清洗柱子，采用乙腈：流动相A = 20 : 80比例的流动相平衡柱子，待基线稳定后开始加样。
3. 检测待测的标准品溶液，进样量为10 μ L，在30min内可分离芹菜素，芹菜素的保留时间为17.6min左右（体系、柱子、流动相pH、温度等不同，保留时间有差异，仅作参考）。
4. 检测待测的样品溶液，进样量为10 μ L，在相应的保留时间处检测芹菜素的峰面积。（如需连续检测可以按下表进行实验）

时间	流动相	
	流动相B	流动相A
0min	20%	80%
30min	60%	40%
30.1min	70%	30%
50min	70%	30%
50.1min	20%	80%
70min	20%	80%

三、芹菜素含量计算

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

芹菜素的含量（mg/g）= x \times V 提取 \div W = 10x

V 提取：提取液的体积，1.5mL；W：样本质量，0.15g；单位换算系数，1 μ g=10⁻³mg=10⁻⁶g。

注：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，关闭柱温箱加热系统，待柱温降到室温或以下，才可以停止流动相。
2. 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。
3. 标准品的稀释倍数要根据样品中芹菜素的浓度确定，样品中芹菜素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。若样本中芹菜素浓度过高，建议可稀释后再测。
4. 若样本量过多，建议每天测试一次标准溶液（一个标准品溶液即可），以确定相应的保留时间，所有待测溶液测试前必须放置至室温状态。
5. 若标准溶液或提取过的样本溶液4°C密封保存后有固体析出，可50°C水浴中微热促进溶解后，再过滤待测。



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