

α -酮戊二酸含量检测试剂盒（高效液相色谱法HPLC）

产品货号：BA2082

产品规格：50T/48S

产品简介：

α -酮戊二酸是戊二酸的两种带酮基的衍生物中的一种。它的阴离子， α -酮戊二酸盐是一种重要的生物化合物。它是谷氨酸脱氨基的酮酸产物，并且是三羧酸循环的中间产物。

α -酮戊二酸在210nm下有吸收峰，可以利用高效液相色谱法测定其含量。

产品内容：

产品名称	规格	保存条件
提取液一	液体80mL×1瓶	2-8℃
提取液二	液体80mL×1瓶	2-8℃
试剂一	液体2mL×1瓶	2-8℃
试剂二	粉剂×2瓶	2-8℃
标准品	粉剂×1瓶	2-8℃，避光

溶液的配制：

标准品：临用前加入 2mL 蒸馏水配制成 10mg/mL α -酮戊二酸标准溶液，2-8℃ 密封保存，避免阳光直射。

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 0.22um 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 α -酮戊二酸标准溶液采用倍比稀释的方法分别用蒸馏水稀释成 2500 μ g/mL、1250 μ g/mL、625 μ g/mL、62.5 μ g/mL、31.25 μ g/mL、6.25 μ g/mL 的 α -酮戊二酸标准溶液。(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。

需自备的仪器和用品：

高效液相色谱仪(Polaris C 18-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(有机系、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。

操作步骤：

一、 α -酮戊二酸的提取：

A. 植物样本

按质量(g)：提取液体积(mL)1：5~10 比例，建议称取 0.15g 样本，充分研磨碾碎，加入 1mL 提取液一，密封，混合均匀，置于 75℃ 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 的提取液一，震荡混匀，75℃ 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)。

B. 动物样本



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

按质量(g): 提取液体积(mL)1: 5~10 比例, 建议称取 0.15g 样本, 充分研磨碾碎, 加入 1mL 提取液二, 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 的提取液二, 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, 测试前采用有机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 μ 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 μ L, 在 25min 内可分离出 α -酮戊二酸, α -酮戊二酸的保留时间为 11.5min 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 μ L, 在相应的保留时间处检测 α -酮戊二酸的峰面积。

三、 α -酮戊二酸含量计算

以标准品浓度(μ g/mL)为横坐标, 峰面积为纵坐标绘制 α -酮戊二酸的标准曲线, 将样本的峰面积代入标准曲线, 计算提取液中 α -酮戊二酸的浓度 x(μ g/mL)。

α -酮戊二酸的含量(μ 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 α -酮戊二酸的浓度确定, 样品中 α -酮戊二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 α -酮戊二酸浓度过高, 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>