

## 维生素 D3 含量检测试剂盒（高效液相色谱法 HPLC）

产品货号：BA2228

产品规格：50T/48S

### 产品简介：

维生素 D3 是一种脂溶性维生素。维生素 D3 的生物学功能与其代谢产物钙三醇密切相关，主要功能包括提高机体对钙和磷的吸收、促进新骨的生成及钙化、调节肝脏中钙结合蛋白质的合成等。

维生素 D3 在 265nm 处存在紫外吸收，可利用紫外检测器测定其含量。

### 试验中所需的仪器和试剂：

高效液相色谱仪（ZORBAX Extend C18 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、混匀仪、EP 管、针头式过滤器（有机系）、注射器、抽滤器、滤膜（水系、有机系）、棕色进样瓶、超纯水、甲醇（色谱纯）。

### 产品内容：

提取液：液体 60mL ×1 瓶，4°C 保存。

标准品：粉剂×1 瓶，4°C 避光保存。临用前加入 1mL 甲醇配制成 5mg/mL 维生素 D3 标准溶液，4°C 密封保存，避免阳光直射。

### 实验前准备工作：

1. 将甲醇（色谱纯）用有机系滤膜抽滤。
2. 将抽滤好的流动相超声 20min，除去气泡。
3. 标准品的配制：将 5mg/mL 的维生素 D3 标准溶液用甲醇稀释成 1000μg/mL、500μg/mL、100μg/mL、20μg/mL、4μg/mL、0.8μg/mL 的维生素 D3 标准溶液。4°C 避光保存（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。

### 操作步骤：

#### 一、维生素 D3 的提取：

按组织质量（g）：提取液体积（mL）1:5~10 比例进行提取，建议称取约 0.2g 样本，加入 1mL 提取液，冰浴匀浆，室温条件下密封避光漩涡剧烈震荡 30min 后 10000rpm 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。

#### 二、测定步骤：

1. 开启电脑、打开高效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，柱温：30°C，流速为 1mL/min，紫外检测器波长为 265nm。单个样本走样时间 15min，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 10μL，在 15min 内可分离出维生素 D3，维生素 D3 的保留时间约为 10min（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 10μL，在相应的保留时间处检测维生素 D3 的峰面积。

**注意：**单个样本测定完成后注意样本物质是否还有残留，必要时可相应延长后运行时间进行色谱柱的清洗。

#### 三、维生素 D3 含量计算

以标准品浓度（μg/mL）为横坐标 x，峰面积为纵坐标 y 绘制维生素 D3 的标准曲线，将样本的峰面积代入标准曲线  $y=kx+b$ ，计算提取液中维生素 D3 的浓度 x（μg/mL）。



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

维生素 D3 的含量 ( $\mu\text{g/g}$ ) =  $x \times V \text{ 提取} \div W \times F = x \div W \times F$

V 提取: 加入提取液体积, 1mL; W: 样本质量, g; F: 稀释倍数, 稀释后测试的样本, 计算时需要乘以相应的稀释倍数。

#### 注意事项:

1. 测试完毕后, 需要用高浓度的超纯水相清洗色谱柱 (约 20-30 个柱体积), 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维生素 D3 的浓度确定, 样品中维生素 D3 的浓度必须在标准品溶液的浓度范围之内, 该标准品的稀释倍数只是一个参考。若样本中维生素 D3 浓度过高, 建议稀释后再测。
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, 待测溶液测试前须放置至室温状态。
4. 为了排除溶剂的影响, 可进行一次空白检测。



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