

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°C
提取液二	液体80mL×1瓶	2-8°C
试剂一	液体2mL×1瓶	2-8°C
试剂二	粉剂×2瓶	2-8°C
标准品	粉剂×1瓶	2-8°C, 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°C 密封保存，避免阳光直射。

实验前准备工作：

- 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。
- 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)。
- 将抽滤好的流动相 A 超声 20min，除去气泡。
- 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 2500μg/mL、1250μg/mL、625μg/mL、62.5μg/mL、31.25μg/mL、6.25μg/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°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。

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°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 的提取液一，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

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



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

扫一扫 加微信

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)。

$$\text{ α -酮戊二酸的含量}(\mu\text{g/g}) = \frac{x \times V}{W} = \frac{1.5x}{W}$$

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

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