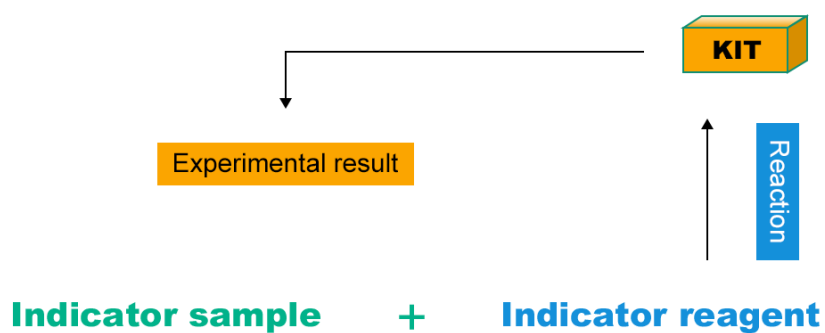


上海茁彩生物科技有限公司
ZCIBIO Technology Co., Ltd



生化检测原理示意图

Cat. NO: ZC-S0638

Size: 50T/24S

维生素 E 检测试剂盒说明书

可见分光光度法

*正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

一、测定意义:

维生素 E (Vitamin E) 是一种天然脂溶性抗氧化剂, 能阻断机体不饱和脂肪酸的过氧化, 维持不饱和脂肪酸细胞膜的完整性和正常功能, 并可清除超氧阴离子自由基, 具有延缓衰老、预防溶血性贫血等作用, 在医药、化妆品、保健品、食品行业具有较高的应用价值。

二、测定原理:

VE 还原 Fe^{3+} 为 Fe^{2+} , Fe^{2+} 与 1, 10-菲罗啉产生有色络合物, 在 510 nm 有特征吸收峰。

三、需自备的仪器和用品:

可见分光光度计、天平、台式离心机、1mL 玻璃比色皿、可调式移液枪、研钵/匀浆器、漩涡振荡仪、无水乙醇、正庚烷、蒸馏水和 EP 管。

四、试剂的组成和配置:

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
试剂一	无水乙醇 30 mL × 1 瓶	室温保存	自备
试剂二	正庚烷 30 mL × 1 瓶	室温保存	自备

试 剂三	液体 30 mL ×1 瓶	4℃避光 保存	-
试 剂四	液体 7 mL × 1 瓶	4℃避光 保存	-
试 剂五	粉剂 ×1 瓶	4℃保存	-
标 准品	液体 20 mg × 1 支	-20℃避光 保存	临用前加入 1 mL 试剂三， 配成 20 mg/mL 的标准品溶液。

试剂五贮备液的制备：将试剂五的粉剂溶于 2 mL 无水乙醇配置成贮备液，4℃避光保存待用。试剂五应用液的制备：取试剂五贮备液用无水乙醇 20 倍稀释后使用，建议当天配置当天使用。

操作步骤：

一、维生素 E 的提取：

(1) 组织样本

试剂名称	
组织 (g)	0.1
蒸馏水 (μL)	200
试剂一 (μL)	300
试剂二 (μL)	500

匀浆后在漩涡混匀仪上震荡 5 min(充分抽提)，于 25℃ 5000g 离心 5min，

取上层正庚烷抽提液 300 μL 加入到 900 μL 无水乙醇中（上层抽提液：无水乙醇=1:3）混匀待测。

注意：吸取上层正庚烷抽提液时，切勿将中间无水乙醇与水的液相层吸入。

(2) 血清（血浆）样本

试剂名称	
血清（血浆）(μL)	200
蒸馏水 (μL)	200
试剂一 (μL)	300
试剂二 (μL)	500
匀浆后在漩涡混匀仪上震荡 5 min(充分抽提) 于 25℃ 5000g 离心 5min，取上层正庚烷抽提液 300 μL 加入到 900 μL 无水乙醇中（上层抽提液：无水乙醇=1:3）混匀待测。	

注意：离心后，吸取上层正庚烷抽提液时，切勿将中间无水乙醇与水的液相层吸入。

二、测定步骤：

1、分光光度计预热 30 min 以上，调节波长至 510 nm，无水乙醇调零。

2、将 20 mg/mL 标准液用试剂三稀释为 50、25、12.5、6.25、3.125 μg/mL 的标准溶液备用。

3、操作表：（在 1.5 mL 离心管中依次加入下列试剂）

试剂名称	对照管	测定管	标准管	空白管
待测样本 (μL)	500	500	—	—
标准溶液 (μL)	—	—	500	—
试剂三 (μL)	—	—	—	500
试剂四 (μL)	100	100	100	100
试剂五 (μL)	—	100	100	—

试 剂 一 (μL)	1 00	-	-	1 00
充分混匀，立即记时，25°C反应 5 min				
试 剂 六 (μL)	3 00	3 00	3 00	3 00
充分混匀，于 1 mL 玻璃比色皿，测定 510 nm 处吸光值，记为 A 对照管和 A 测定管，A 标准管和 A 空白管。计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$ 。每个测定管需设一个对照管。				

www.zcibio.com

维生素 E 含量计算

1、 标准曲线的绘制：

以各个标准溶液的浓度为 x 轴，其对应的 ΔA 标准为 y 轴，绘制标准曲线，得到标准方程 $y=kx+b$ ，将 ΔA 带入方程得到 x ($\mu\text{g/mL}$)

2、 维生素 E 含量的计算：

(1) 按样本质量计算

$$\text{VE 含量 } (\mu\text{g/g 鲜重}) = x \times 4 \times V_{\text{样总}} \div W = 2x \div W$$

(2) 按血清（血浆）体积计算

$$\text{VE 含量 } (\mu\text{g/mL}) = x \times 4 \times V_{\text{样总}} \div V_{\text{血清(浆)}} = 10x$$

4: 待测样本为 300 μL 的正庚烷抽提液加 900 μL 的无水乙醇，相当于将抽提样本稀释 4 倍后检测；V 样总：提取过程加入正庚烷的体积，0.5 mL；W：样本质量，g；V 血清（浆）：提取过程中

加入血清
(浆) 体积，0.2
mL。注意事项

- 1、离心后，在吸取上层正庚烷抽提液时，切勿将中间无水乙醇与水的液相层吸入，以免影响试验结果。
- 2、若 $\Delta A > 0.8$ ，建议将样品用试剂三进行适当的稀释，并在计算公式中乘以稀释倍数。
- 3、若反应体系产生沉淀，建议将待测样本用试剂三进行适当的稀释，并在计算公式中乘以稀释倍数。
- 4、检测过程中，比色皿需用无水乙醇冲洗，勿用蒸馏水以防出现分层影响试验数据。
- 5、显色结束后尽快完成测定。