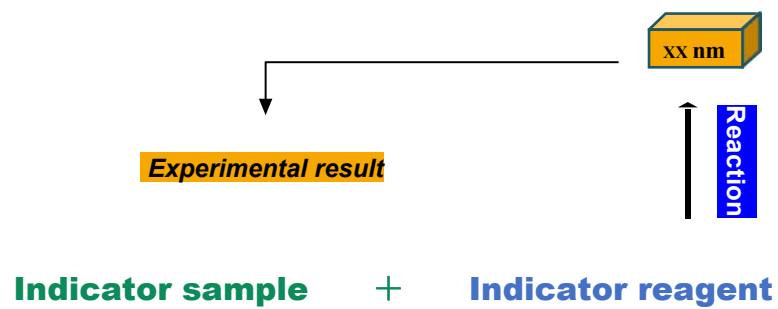


上海茁彩生物科技有限公司
Shanghai zcibio technology Co.,Ltd.



生化检测原理示意图

维生素 E 含量检测试剂盒说明书

可见分光光度法

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

产品简介：

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。

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。试验中所需的仪器和试剂：

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、漩涡震荡仪、无水乙醇、正庚烷、蒸馏水和 EP 管。

产品内容：

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°C, 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°C, 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)	100	—	—	100
充分混匀, 立即记时, 25°C反应 5 min				
试剂六 (μL)	300	300	300	300

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。

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。