

## 维生素 E (VE) 含量测定试剂盒说明书

(货号: G0175F 分光法 48 样)

### 一、产品简介:

维生素 E 亦称维他命 E, 又名生育酚或产妊酚, 在动物机体中无法合成或供给不足的营养成分, 是最主要的抗氧化剂之一。维生素 E 具有抗氧化、抗癌、抗炎等生物活性, 在动物生产中可提高生长性能、改善产品质量和提高机体免疫能力。

维生素 E 能将  $Fe^{3+}$  还原为  $Fe^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$  与 1,10-菲罗啉 (1,10-Phenanthroline) 反应生成有色络合物, 产物在 510nm 处有特征吸收峰, 通过吸光值变化即可定量检测维生素 E 含量。

### 二、试剂盒的组成和配制:

| 试剂名称 | 规格          | 保存要求 | 备注                                |
|------|-------------|------|-----------------------------------|
| 试剂一  | 粉剂 mg×3 支   | 4℃保存 | 使用前甩几下使试剂落入底部, 每支再加 3mL 无水乙醇溶解备用。 |
| 试剂二  | 液体 5mL×1 瓶  | 4℃保存 |                                   |
| 试剂三  | 液体 35mL×1 瓶 | 4℃保存 |                                   |
| 标准品  | 粉体 mg×1 支   | 4℃保存 | 若重新做标曲, 则用到该试剂。                   |

### 三、所需的仪器和用品:

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿(光径 1cm)、台式离心机、可调式移液器、研钵、无水乙醇、正庚烷。

### 四、维生素 E 含量测定:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定, 了解本批样品和实验流程, 避免样本和试剂浪费!

#### 1、样本制备:

① 组织样本: 称取约 0.1g 组织, 依次加入 200 $\mu$ L 蒸馏水、300 $\mu$ L 无水乙醇和 500 $\mu$ L 正庚烷研磨匀浆; 涡旋振荡抽提 1min; 8000rpm, 室温离心 5min, 取 300 $\mu$ L 上层溶液移至另一 EP 管中, 加入 900 $\mu$ L 无水乙醇 (上层溶液: 无水乙醇=1:3), 充分混匀即为待测上清液。

**【注】:** 吸取上层溶液时, 切勿将中间无水乙醇与水相层吸入。

**【注】:** 若增加样本量, 可按照组织质量 (g): 提取液体积(mL)为 1: 5~10 的比例进行提取。

② 液体样本: 吸取 200  $\mu$ L 液体样本, 依次加入 300  $\mu$ L 无水乙醇和 500  $\mu$ L 正庚烷充分混匀, 涡旋振荡抽提 5min, 8000rpm, 室温离心 5min, 取 300  $\mu$ L 上层溶液移至另一 EP 管中, 加入 900  $\mu$ L 无水乙醇 (上层溶液: 无水乙醇=1:3), 充分混匀即为待测上清液。

**【注】:** 吸取上层溶液时, 切勿将中间无水乙醇与水相层吸入。

#### 2、上机检测:

① 可见分光光度计预热 30min 以上, 调节波长至 510nm。

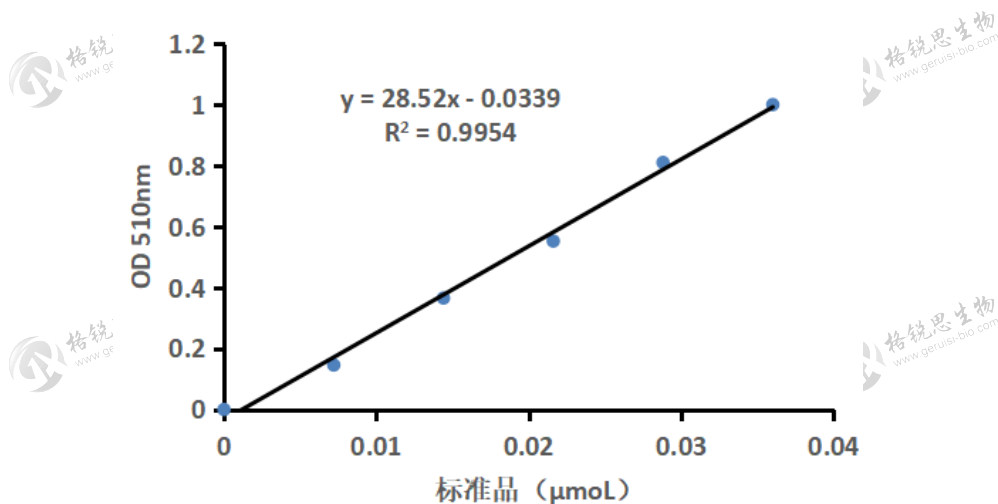
② 所有试剂恢复至室温 (25℃)。依次在 EP 管中加入:

| 试剂名称( $\mu$ L)           | 测定  | 对照  |
|--------------------------|-----|-----|
| 样本                       | 300 | 300 |
| 试剂一                      | 70  | 70  |
| 试剂二                      | 70  |     |
| 无水乙醇                     |     | 70  |
| 充分混匀, 室温孵育 5min          |     |     |
| 试剂三                      | 300 | 300 |
| 充分混匀后, 取全部澄清液体至 1mL 玻璃比色 |     |     |

皿(光径 1cm)中, 于 510nm 读取吸光值,  
 $\Delta A = \text{测定} - \text{对照}$  (每个样本做一个自身对照)。

## 五、结果计算:

1、标准曲线方程为  $y = 28.52x - 0.0339$ ;  $x$  为标准品摩尔质量 ( $\mu\text{mol}$ ),  $y$  为  $\Delta A$ 。



2、按样本重量计算:

$$\begin{aligned} \text{维生素 E 含量}(\mu\text{g/g 重量}) &= [(\Delta A + 0.0339) \div 28.52 \div V1 \times 4 \times V \times Mr] \div W \times D \\ &= 100.68 \times (\Delta A + 0.0339) \div W \times D \end{aligned}$$

3、按液体体积计算:

$$\begin{aligned} \text{维生素 E 含量}(\mu\text{g/mL}) &= [(\Delta A + 0.0339) \div 28.52 \div V1 \times 4 \times V \times Mr] \div V \text{液} \times D \\ &= 503.4 \times (\Delta A + 0.0339) \times D \end{aligned}$$

D---稀释倍数, 未稀释即为 1;

V1---加入样本的上清液, 0.3mL;

V---提取液中试剂一体积, 0.5 mL;

附: 标准曲线制作过程:

- 1 制备标准品母液 (3mg/mL): 用前甩几下使液体落入底部 (共 30mg), 称取 3mg 标准品粉体至新 EP 管, 再加入 1mL 无水乙醇溶解即母液为 3mg/mL。
- 2 把母液用乙醇稀释成六个浓度梯度的标准品: 0, 6, 12, 18, 24, 30.  $\mu\text{g/mL}$ 。
- 3 依据测定管的加样表操作 (把样本换成各个浓度标准品), 根据结果即可制作标准曲线。