

## 维生素 E 含量检测试剂盒说明书

高效液相色谱法

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。

货号: AC10757

规格: 50T/48S

### 产品简介：

维生素 E (VE) 是一种人体必需的脂溶性维生素，易溶于脂肪和乙醇等有机溶剂中。维生素 E 具有保护机体组织结构完整，维持机体正常繁殖机能，增强机体免疫力等作用。

维生素 E 在一定的光激发条件下具有荧光特性，可利用荧光检测器测定其含量。

### 试验中所需的仪器和试剂：

高效液相色谱仪 (ZORBAX Extend C18 色谱柱 (4.6×250 mm)，荧光检测器 (FLD))、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 60 mL ×1 瓶，4°C 保存。

标准品：粉剂 ×1 瓶，-20°C 避光保存。临用前加入 1 mL 甲醇配制成 5 mg/mL 维生素 E 标准溶液，-20°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 20 min，除去气泡。
4. 标准品的配制：将 5 mg/mL 的维生素 E 标准溶液采用倍比稀释的方法分别用甲醇稀释成 100 μg/mL、20 μg/mL、4 μg/mL、0.8 μg/mL、0.16 μg/mL 的维生素 E 标准溶液。-20°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 E 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 0.2 g 样本，加入 1 mL 提取液，冰浴匀浆，密封室温条件下避光漩涡剧烈震荡 30 min，10000 rpm 离心 10 min，取清液，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 10 μL，柱温：30°C，流速为 1 mL/min，荧光检测器：Ex=295 nm，Em=330 nm。单个样本走样时间 16 min，设置完毕保存方法组。
3. 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。
4. 检测待测的标准品溶液，进样量为 10 μL，在 16 min 内可分离出维生素 E，维生素 E 的保留时间约为 12 min (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)。
5. 检测待测的样品溶液，进样量为 10 μL，在相应的保留时间处检测维生素 E 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 E 含量计算

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

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

$V_{\text{提取}}$ ：加入提取液体积，1 mL； $W$ ：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 E 的浓度确定，样品中维生素 E 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 E 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。