总甾醇（Total sterol ）含量试剂盒说明书

分光法 48 样

一、产品说明

植物甾醇是一种天然活性物质，广泛存在于植物油、蔬菜和水果中，具有降低血脂、预防心血管疾病和前列腺肥大等临床功效。

利用磷硫铁比色法测定总甾醇的含量。

二、自备用品

分光光度计、移液器、1mL 玻璃比色皿、浓硫酸、正己烷、氮吹仪

三、试剂组成

试剂名称	规格	保存温度	配置	备注
提取液	液体 100 mL×1 瓶	4℃保存		
试剂一	粉剂×2 瓶	4℃避光保存	临用前加入 12.5 mL 蒸馏水充分溶解	现配现用
试剂二	粉剂×2 支	4℃保存	临用前加入 0.6 mL 试剂三充分溶解	现配现用
试剂三	液体 1.5 mL×1 支	4℃保存		
显色剂配置：试剂二：浓 H_2SO_4 按照 1（μL）：24（μL）的体积比进行配置；用多少配多少				现配现用

四、样本处理

建议正式实验前取 2 个样本做预测定，了解本批样本含量情况，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费！

样本烘干，粉碎过筛，在 15 mL 离心管中称取 0.1 g 样本，加入 1mL 提取液和 0.5mL 试剂一剧烈震荡 30s，80℃水浴 1h（期间每 20 min 振摇 1 次）后取出冷却至室温。在离心管中加入 1 mL 蒸馏水和 2.5 mL 正己烷萃取，剧烈摇晃 30s 后静置，取上层液体移至新 15mL 离心管中，萃取过程重复 3 遍。将全部上层液体合并后氮吹浓缩（保留约 0.3mL 溶液，切勿完全吹干，以免总甾醇复溶困难），再用乙醇复溶，定容至 2 mL。

液体样本：用枪头吸取 0.5g 液体至 15mL 离心管中，加入 1mL 提取液和 0.5mL 试剂一剧烈震荡 30 s，80℃水浴皂化 1 h（期间每 20 min 振摇 1 次）后取出冷却至室温。在离心管中加入 1 mL 蒸馏水和 2.5 mL 正己烷萃取，剧烈摇晃 30 s 后静置，取上层液体移至新 15 mL 离心管中，萃取过程重复 3 遍。将全部上层液体合并后氮吹浓缩（保留约 0.3 mL 溶液，切勿完全吹干，以免总甾醇复溶困难），再用乙醇复溶，定容至 2 mL。

注：正己烷萃取后，溶液如果长时间不分层且呈胶状，可 5000 rpm，25℃离心 2 min，取全部上层胶状溶液合并。

五、测定步骤

1、分光光度计预热 30 min 以上，调节波长至 480 nm，蒸馏水调零。

2、在 EP 管中加入下列试剂

	测定管	空白管
上清液（μL）	450	
提取液（μL）		450
显色剂（μL）	450	450
室温静置 10 min，取反应液于 1 mL 玻璃比色皿中，测定 480 nm 处各管吸光值 A；计算 △A=A 测定-A 空白		

六、计算公式

标准曲线为 y = 5.3948x + 0.0029；R^2 = 0.9929；x 为对照品质量，mg/mL；y 为△A。

1、按样本质量计算

总甾醇含量(μg/g 干重)=(△A-0.0029)÷5.3948×V 样÷(V 样÷V 样总×W)×1000

买试剂，找沃凯
邮箱：Jack@oka-vip.com Http://www.bjoka-vip.com 电话: 010-62971590

=370.73×(△A-0.0029)÷W

2、按液体质量计算

总甾醇含量(μg/g)=(△A-0.0029)÷5.3948×V 样÷(V 样÷V 样总×W)×1000

=370.73×(△A-0.0029)÷W

V 样：加入样本体积，0.2 mL；V 样总：加入提取液体积，2 mL；W：样本干重/液体质量，g；1000，毫克到微克的换算系数。

本产品仅用于科学研究或者工业应用等非医疗目的
不可用于人类或动物的临床诊断或治疗，非药用，非食用