

维生素 E (VE) 含量检测试剂盒

(货号: RBC0033 微板法 100T/48S)

一、产品简介:

维生素 E (Vitamin E) 是一种脂溶性维生素, 其水解产物为生育酚, 是生物体中最主要的抗氧化剂之一, 能阻止不饱和脂肪酸收到过氧化作用的损伤, 维持不饱和脂肪酸细胞膜的完整性和正常功能, 具有延缓衰老、预防溶血性贫血作用, 在医药、化妆品、保健品、食品行业具有 2 有较高的应用价值。

VE 还原 Fe^{3+} 为 Fe^{2+} , Fe^{2+} 与 1,10-菲啰啉产生有色络合物, 在 530nm 有特征吸收峰。

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	自备	常温保存	无水乙醇
试剂二	自备	常温保存	正庚烷
试剂三	液体 3mL×1 瓶	4°C保存	
试剂四	粉剂×1 瓶	4°C保存	试剂四贮备液的制备: 将试剂四的粉剂溶于 2 mL 无水乙醇配制成贮备液, 2-8°C避光保存待用; 试剂四使用液的制备: 取试剂四贮备液用无水乙醇 20 倍稀释后使用, 建议当天配制当天使用。
试剂五	液体 7 mL×1 瓶	4°C保存	
标准品	粉剂×1 支	-20°C保存	临用前加入 1 mL 试剂一, 充分溶解 (即 20 mg/mL 标准品母液)
标准溶液的制备: 将 20mg/mL 标准品母液用试剂一稀释为 100、50、25、12.5、6.25、3.125 μ g/mL 的标准溶液备用。也可根据实际样本来调整标准品浓度。			



三、所需的仪器和用品：

酶标仪、96孔板、研钵/匀浆器、天平、冰、台式离心机、漩涡震荡仪、可调式移液器、无水乙醇、正庚烷和蒸馏水。

四、维生素 E (VE) 含量测定：

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

1、样本制备：

① 组织样本：

称取约 0.1g 组织(水分充足的样本取约 0.5g 组织)，加入 200ul 蒸馏水，再加入 300ul 试剂一和 500ul 试剂二，进行匀浆，匀浆后在旋涡混匀仪上震荡 5min（充分抽提）。25°C, 5000g 离心 5min, 取上层正庚烷抽提液 300 μ L 加入到 900 μ L 无水乙醇中（上层抽提液：无水乙醇=1:3）混匀待测。

② 血清（血浆）样本：取血清（血浆）200ul，加入 200ul 蒸馏水，再加入 300ul 试剂一和 500ul 试剂二，进行匀浆，匀浆后在旋涡混匀仪上震荡 5min（充分抽提）。25°C, 5000g 离心 5min, 取上层正庚烷抽提液 300 μ L 加入到 900 μ L 无水乙醇中(上层抽提液：无水乙醇=1:3) 混匀待测。

2、上机检测：

① 酶标仪预热 30 min，调节波长到 530nm。

② 操作表：

试剂名称 (μ L)	测定管	对照管	标准管	空白管
样本	100	100	-	-
标准液	-	-	100	-
试剂一	-	20	-	120
试剂三	20	20	20	20
试剂四	20	-	20	-
充分混匀，立即记时，25°C反应 5 min				
试剂五	60	60	60	60
充分混匀，测定 530 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 $\Delta A = A$ 测定管 - A 对照管, ΔA 标准 = A 标准管 - A 空白管。每个测定管需设一个对照管。				



五、结果计算：

1、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、按样本质量计算：

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

3、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 $300\mu\text{L}$ 的正庚烷抽提液加 $900\mu\text{L}$ 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， 0.5mL ；

W：样本质量，g；

V 血清（浆）：提取过程中加入血清（浆）体积， 0.2mL 。

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如果测定吸光值超过线性范围吸光值，可以增加样本量或者稀释样本后再进行测定。

③若反应体系产生沉淀，建议将待测样本用试剂一进行适当的稀释，并在计算公式中乘以稀释倍数。

④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。

