

维生素 E (Vitamin E, VE) 试剂盒说明书

分光光度法 50 管/24 样

正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

测定意义:

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、食品行业具有较高的应用价值。

测定原理:

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

组成:

产品名称	VS005-50T/24S	Storage
提取液: 液体	100ml	4°C
试剂一: 液体	5ml	4°C避光
试剂二: 液体	5ml	4°C
试剂三: 液体	5ml	4°C
试剂四: 液体	15ml	4°C
说明书	一份	

试剂三: 粉剂×1 瓶, -20 °C保存, 用时加入 4ml 蒸馏水, 混匀, 用不完的试剂 4°C保存一周;

试剂四: 粉剂×1 瓶, 4 °C保存, 用时加入 4ml 蒸馏水, 混匀, 用不完的试剂 4°C保存一周;

自备仪器和用品:

天平、研钵、离心机、可见分光光度计、1 ml 玻璃比色皿、漩涡震荡仪。

样本处理:

1. 组织: 按照质量 (g) : 提取液体积(ml)为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.2g, 加入 1ml 提取液) 加入提取液, 充分匀浆后用提取液定至 2ml, 在漩涡混匀仪上震荡 5min, 于 25°C, 5000g 离心 10min, 取上层测定。
2. 细胞: 按照细胞数量 (10^4 个) : 提取液体积 (ml) 为 500~1000: 1 的比例 (建议 1000 万细胞加入 2ml 提取液), 冰浴超声波破碎细胞 (功率 300w, 超声 3 秒, 间隔 7 秒, 总时间 3min); 在漩涡混匀仪上震荡 5min, 于 25°C, 5000g 离心 10min, 取上层测定。

最终解释权所有 © 伊势久 (江苏连云港) 生物科技有限责任公司, 保留一切权利



3. 血清：取 0.1ml，加 1.9ml 提取液，漩涡仪混匀上震荡 5min，于 25°C，5000g 离心 10min，取上层测定。

测定操作：

	对照管	测定管
样品 (μl)	500	500
试剂一 (μl)	100	100
试剂二 (μl)		100
试剂三 (μl)	100	
充分混匀，25°C反应 5min		
试剂四 (μl)	300	300
充分混匀，于 1ml 玻璃比色皿，无水乙醇调零，测定 530nm 处吸光值，记为 A 对照管和 A 测定管， $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ 。		

计算公式：

标准曲线： $y = 0.22x + 0.0065$ ， $R^2 = 0.9978$

1. 按照蛋白含量计算

$$\begin{aligned} \text{VE 含量 } (\mu\text{g}/\text{mg prot}) &= (\Delta A - 0.0065) \div 0.22 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \\ &= 9.09 \times (\Delta A - 0.0065) \div \text{Cpr} \end{aligned}$$

2. 按照样本质量计算

$$\begin{aligned} \text{VE 含量 } (\mu\text{g}/\text{g}) &= (\Delta A - 0.0065) \div 0.22 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times W \div V_{\text{样总}}) \\ &= 18.18 \times (\Delta A - 0.0065) \div W \end{aligned}$$

3. 按照细胞数量计算

$$\begin{aligned} \text{VE 含量 } (\mu\text{g}/10^4 \text{ cell}) &= (\Delta A - 0.0065) \div 0.22 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times \text{细胞数量} \div V_{\text{样总}}) \\ &= 18.18 \times (\Delta A - 0.0065) \div \text{细胞数量} \end{aligned}$$

4. 按照液体体积计算

$$\begin{aligned} \text{VE 含量 } (\mu\text{g}/\text{ml}) &= (\Delta A - 0.0065) \div 0.22 \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \times 20 \\ &= 181.82 \times (\Delta A - 0.0065) \end{aligned}$$

V 反总：反应总体积，1ml；V 样：加入样本体积，0.5ml；V 样总：加入提取液体积，2ml；Cpr：蛋白浓度，mg/ml；W：样本质量，g

注意事项：

1. 若反应体系产生沉淀，需要将样品进行适当的稀释，并在计算公式中乘以稀释倍数。
2. 最低检出限为 1μg/g。

