

## 维生素 E (Vitamin E, VE) 试剂盒说明书

### 微量法 100T/48S

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。

#### 自备实验用品及仪器

天平、研钵、离心机、可见分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96 孔板、漩涡震荡仪。  
NADH，进一步采用 MTT 还原法检测。

#### 组成：

| 产品名称   | VS006-100T/48S | Storage |
|--------|----------------|---------|
| 提取液：液体 | 100ml          | 4°C     |
| 试剂一：液体 | 2ml            | 4°C避光   |
| 试剂二：液体 | 2ml            | 4°C     |
| 试剂三：液体 | 2ml            | 4°C     |
| 试剂四：液体 | 6ml            | 4°C     |
| 说明书    | 一份             |         |

#### 自备仪器和用品：

天平、研钵、离心机、可见分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96 孔板、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 0.1g, 加入 1ml 提取液) 加入提取液，匀浆后用提取液定至 1ml，定至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 500 万细胞加入 1ml 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）后在漩涡混匀仪上震荡 5min，于 25°C，5000g 离心 10min，取上层测定。
3. 血清：取 0.1ml，加 0.9ml 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)  | 100 | 100 |
| 试剂一 (μl)   | 20  | 20  |
| 试剂二 (μl)   |     | 20  |
| 试剂三 (μl)   | 20  |     |
| 充分混匀，25°C反应 5min   |     |     |
| 试剂四 (μl)   | 60  | 60  |
| 充分混匀，于微量石英比色皿/96 孔板，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：**

a. 用微量石英比色皿测定的计算公式如下

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

1. 按照蛋白含量计算

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

2. 按照样本质量计算

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

3. 按照细胞数量计算

$$\begin{aligned} \text{VE 含量 } (\mu\text{g}/10^4 \text{ cell}) &= (\Delta A - 0.0065) \div 0.22 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times \text{细胞数量} \div V_{\text{样总}}) \\ &= 9.09 \times (\Delta A - 0.0065) \div \text{细胞数量} \end{aligned}$$

4. 按照液体体积计算

$$\begin{aligned} \text{VE 含量 } (\mu\text{g}/\text{ml}) &= (\Delta A - 0.0065) \div 0.22 \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \times 10 \\ &= 90.9 \times (\Delta A - 0.0065) \end{aligned}$$

$V_{\text{反总}}$ ：反应总体积，0.2ml； $V_{\text{样}}$ ：加入样本体积，0.1ml； $V_{\text{样总}}$ ：加入提取液体积，1ml； $C_{\text{pr}}$ ：蛋白浓度，mg/ml； $W$ ：样本质量，g

b. 用 96 孔板测定的计算公式如下

标准曲线： $y = 0.11x + 0.0065$   $R^2 = 0.9978$

1. 按照蛋白含量计算

$$\begin{aligned} \text{VE 含量 } (\mu\text{g}/\text{mg prot}) &= (\Delta A - 0.0065) \div 0.11 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \\ &= 18.18 \times (\Delta A - 0.0065) \div C_{\text{pr}} \end{aligned}$$

2. 按照样本质量计算

$$\begin{aligned} \text{VE 含量 } (\mu\text{g}/\text{g}) &= (\Delta A - 0.0065) \div 0.11 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times W \div V_{\text{样总}}) \\ &= 18.18 \times (\Delta A - 0.0065) \div W \end{aligned}$$



3. 按照细胞数量计算

$$\begin{aligned} \text{VE 含量 } (\mu\text{g}/10^4 \text{ cell}) &= (\Delta A - 0.0065) \div 0.11 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times \text{细胞数量} \div V_{\text{样总}}) \\ &= 18.18 \times (\Delta A - 0.0065) \div \text{细胞数量} \end{aligned}$$

4. 按照液体体积计算

$$\begin{aligned} \text{VE 含量 } (\mu\text{g}/\text{ml}) &= (\Delta A - 0.0065) \div 0.11 \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \times 10 \\ &= 181.8 \times (\Delta A - 0.0065) \end{aligned}$$

V 反总: 反应总体积, 0.2ml; V 样: 加入样本体积, 0.1ml; V 样总: 加入提取液体积, 1ml; Cpr: 蛋白浓度, mg/ml; W: 样本质量, g

**注意事项:**

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。

