

维生素 E (Vitamin E, VE) 试剂盒说明书

分光光度法 50 管/24 样

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。

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、1 mL 玻璃比色皿、漩涡震荡仪。

试剂组成和配制：

提取液：液体 100mL×1 瓶，4℃ 保存。

试剂一：液体 5mL×1 瓶，4℃ 避光保存。

试剂二：液体 5mL×1 瓶，4℃ 保存。

试剂三：液体 5mL×1 瓶，4℃ 保存。

试剂四：液体 15mL×1 瓶，4℃ 保存。

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℃，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℃，5000g 离心 10min，取上层测定。
3. 血清：取 0.1mL，加 1.9mL 提取液，漩涡仪混匀上震荡 5min，于 25℃，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℃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 $1 \mu\text{g}/\text{g}$ 。