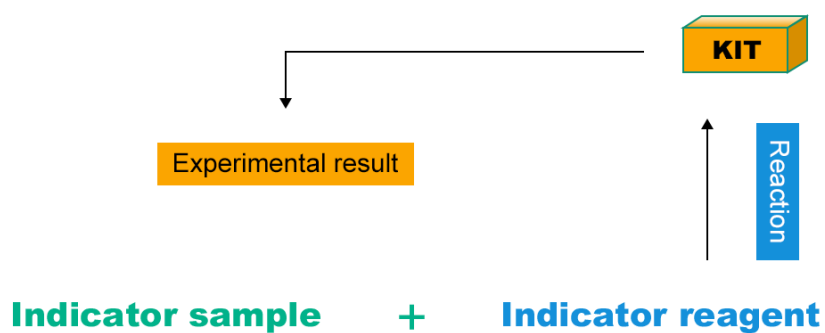


上海茁彩生物科技有限公司
ZCIBIO Technology Co., Ltd



生化检测原理示意图

Cat. NO: ZC-S0365

Size: 100T/48S

维生素 E 检测试剂盒说明书

微量法

*正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

一、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。

二、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。

三、需自备的仪器和用品:

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。

四、试剂的组成和配置:

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 100mL × 1 瓶	4℃ 保存	
试剂一	液体 2mL × 1 瓶	4℃ 避光保存	
试剂二	液体 2mL × 1 支	4℃ 保存	
试剂三	液体 2mL × 1 支	4℃ 保存	
试剂四	液体 6mL × 1 瓶	4℃ 保存	

五、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℃，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℃，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℃，5000g 离心 10min，取上层测定。

六、测定操作

	对照管	测定管
样品 (μ L)	100	100
试剂一 (μ L)	20	20
试剂二 (μ L)		20
试剂三 (μ L)	20	
充分混匀，25℃反应 5min		
试剂四 (μ L)	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， $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ 。		

七、计算公式

- 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

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

2. 按照样本质量计算

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

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

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

$V_{\text{反总}}$: 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; Cpr : 蛋白浓度, mg/mL; W : 样本质量, g

- 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

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

2. 按照样本质量计算

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

$$= 18.18 \times (\Delta A - 0.0065) \div W$$

3. 按照细胞数量计算

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

4. 按照液体体积计算

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

$V_{\text{反总}}$: 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_{pr} : 蛋白浓度, mg/mL; W : 样本质量, g

八、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。