

维生素 E (VE) 含量检测试剂盒说明书

微量法

货号: BC1425

规格: 100T/48S

产品组成: 使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致, 有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	自备试剂	-
试剂二	自备试剂	-
试剂三	液体 50 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂四	液体 3 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂五	粉剂×1 瓶	2-8℃保存
试剂六	液体 7 mL×1 瓶	2-8℃保存
标准品	液体 20 mg×1 支	-20℃保存

溶液的配制:

- 1、试剂一: 自备无水乙醇, 大约需要 20mL, 常温保存; 试剂盒内提供一个 30mL 棕色空瓶, 仅做分装使用, 请自行标注试剂名称。
- 2、试剂二: 自备正庚烷, 大约需要 30mL, 常温保存; 试剂盒内提供一个 30mL 棕色空瓶, 仅做分装使用, 请自行标注试剂名称。
- 3、试剂五贮备液的制备: 将试剂五的粉剂溶于 2 mL 无水乙醇配制成为贮备液, 2-8℃避光保存待用。
- 4、试剂五应用液的制备: 取试剂五贮备液用无水乙醇 20 倍稀释后使用, 建议当天配制当天使用。
- 5、标准品: 临用前加入 1 mL 试剂三, 配成 20 mg/mL 的标准品溶液。

产品说明:

维生素E (Vitamin E) 是一种天然脂溶性抗氧化剂, 能阻断机体不饱和脂肪酸的过氧化, 维持不饱和脂肪酸细胞膜的完整性和正常功能, 并可清除超氧阴离子自由基, 具有延缓衰老、预防溶血性贫血等作用, 在医药、化妆品、保健品、食品行业具有较高的应用价值。

VE还原 Fe^{3+} 为 Fe^{2+} , Fe^{2+} 与1,10-菲罗啉产生有色络合物, 在510nm有特征吸收峰。

技术指标:

最低检出限: 2.9178 $\mu\text{g/mL}$ 线性范围: 3.125-100 $\mu\text{g/mL}$

注意: 实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

需自备的仪器和用品:

可见分光光度计/酶标仪、天平、台式离心机、微量玻璃比色皿/96孔板、可调式移液枪、研钵/匀浆器、漩涡震荡仪、无水乙醇 (>98%, AR)、正庚烷 (>98%, AR)、蒸馏水和EP管。

操作步骤:





一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

1. 组织样本

试剂名称	
组织 (g)	0.1
蒸馏水 (μL)	200
试剂一 (μL)	300
试剂二 (μL)	500
匀浆后在漩涡混匀仪上震荡 5min（充分抽提），于 25℃，5000g 离心 5min，取上层正庚烷抽提液 300μL 加入到 900μL 无水乙醇中（上层抽提液：无水乙醇=1:3）混匀待测。	

注意：离心后，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。

2. 血清（血浆）样本

试剂名称	
血清（血浆）(μL)	200
蒸馏水 (μL)	200
试剂一 (μL)	300
试剂二 (μL)	500
在漩涡混匀仪上震荡 5min（充分抽提），于 25℃，5000g 离心 5min，取上层正庚烷抽提液 300μL 加入到 900μL 无水乙醇中（上层抽提液：无水乙醇=1:3）混匀待测。	

注意：离心后，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。

二、测定步骤

- 分光光度计/酶标仪预热30min以上，调节波长至510nm，无水乙醇调零。
- 标准溶液的制备：将20mg/mL标准液用试剂三稀释为50、25、12.5、6.25、3.125 μg/mL的标准溶液备用（注意不要在此步骤直接检测吸光值）。
- 操作表：依次加入下列试剂

试剂名称	对照管	测定管	标准管	空白管
待测样本 (μL)	100	100	-	-
标准溶液 (μL)	-	-	100	-
试剂三 (μL)	-	-	-	100
试剂四 (μL)	20	20	20	20
试剂五 (μL)	-	20	20	-
试剂一 (μL)	20	-	-	20
充分混匀，立即记时，25℃反应5 min				
试剂六 (μL)	60	60	60	60
充分混匀，测定 510 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 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$ 。每个测定管需设一个对照管。				

三、维生素 E 含量计算

1. 标准曲线的绘制：

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. 维生素E含量的计算:

(1) 按样本质量计算

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

(2) 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; $V_{\text{样总}}$: 提取过程加入正庚烷的体积, 0.5mL ; W : 样本质量, g ; $V_{\text{血清(浆)}}$: 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三进行适当的稀释, 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。

实验实例:

- 1、取 0.1g 核桃依次加入 $200\mu\text{L}$ 蒸馏水, $300\mu\text{L}$ 的试剂一, $500\mu\text{L}$ 试剂二进行匀浆研磨, 匀浆后在漩涡混匀仪上震荡 5min (充分抽提), 于 25°C , 5000g 离心 5min , 取上层正庚烷抽提液 $300\mu\text{L}$ 加入到 $900\mu\text{L}$ 无水乙醇中 (上层抽提液: 无水乙醇=1:3), 之后按照测定步骤操作, 用 96 孔板测得计算 ΔA 测定管=A 测定管-A 对照管= $0.336-0.046=0.29$, 根据标准曲线 $y=0.0042x+0.1849$, 计算 $x=25.02$, 按样本质量计算维生素 E 含量得:
 $\text{VE 含量} (\mu\text{g/g 质量}) = 2 \times x \div W = 2 \times 25.02 \div 0.1 = 500.4 \mu\text{g/g 质量}$ 。

相关系列产品:

BC4190/BC4195 维生素 B1 (VB1) 含量检测试剂盒
BC2110/BC2115 维生素 B6 (VB6) 含量检测试剂盒

