

维生素 E (VE) 含量测定试剂盒说明书

(货号: G0175W 微板法 96 样)

一、产品简介:

维生素 E 亦称维他命 E, 又名生育酚或产妊酚, 在动物机体中无法合成或供给不足的营养成分, 是最主要的抗氧化剂之一。维生素 E 具有抗氧化、抗癌、抗炎等生物活性, 在动物生产中可提高生长性能、改善产品质量和提高机体免疫能力。

维生素 E 能将 Fe^{3+} 还原为 Fe^{2+} , Fe^{2+} 与 1,10-菲罗啉 (1,10-Phenanthroline) 反应生成有色络合物, 产物在 510nm 处有特征吸收峰, 通过吸光值变化即可定量检测维生素 E 含量。

二、试剂盒的组成和配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	粉剂 mg×4 支	4℃保存	使用前甩几下使试剂落入底部, 每支再加 1.5mL 无水乙醇溶解备用。
试剂二	液体 2.5mL×1 瓶	4℃保存	
试剂三	液体 13mL×1 瓶	4℃保存	
标准品	粉体 mg×1 支	4℃保存	若重新做标曲, 则用到该试剂。

三、所需的仪器和用品:

酶标仪、96 孔板、台式离心机、可调式移液器、研钵、无水乙醇、正庚烷。

四、维生素 E 含量测定:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定, 了解本批样品和实验流程, 避免样本和试剂浪费!

1、样本制备:

① 组织样本: 称取约 0.1g 组织, 依次加入 200 μ L 蒸馏水、300 μ L 无水乙醇和 500 μ L 正庚烷研磨匀浆, 涡旋振荡抽提 1min; 8000rpm, 室温离心 5min, 取 300 μ L 上层溶液移至另一 EP 管中, 加入 900 μ L 无水乙醇 (上层溶液: 无水乙醇=1:3), 充分混匀即为待测上清液。

【注】: 吸取上层溶液时, 切勿将中间无水乙醇与水相层吸入。

【注】: 若增加样本量, 可按照组织质量 (g): 提取液体积 (mL) 为 1: 5~10 的比例进行提取。

② 液体样本: 吸取 200 μ L 液体样本, 依次加入 300 μ L 无水乙醇和 500 μ L 正庚烷充分混匀, 涡旋振荡抽提 5min, 8000rpm, 室温离心 5min, 取 300 μ L 上层溶液移至另一 EP 管中, 加入 900 μ L 无水乙醇 (上层溶液: 无水乙醇=1:3), 充分混匀即为待测上清液。

【注】: 吸取上层溶液时, 切勿将中间无水乙醇与水相层吸入。

2、上机检测:

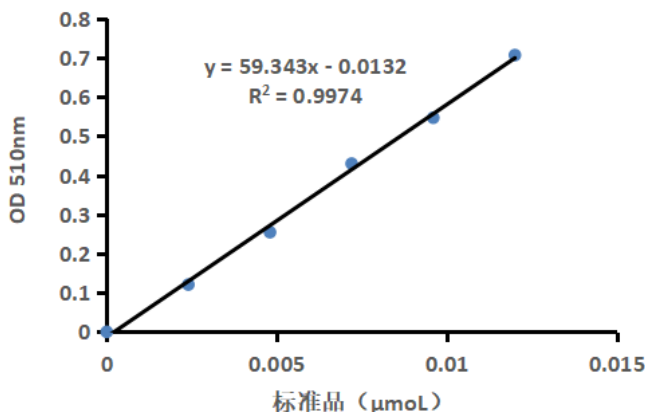
① 酶标仪调节波长至 510nm。

② 所有试剂恢复至室温 (25℃)。依次在 96 孔板中加入:

试剂名称 (μ L)	测定管	对照管
样本	100	100
试剂一	20	20
试剂二	20	
无水乙醇		20
充分混匀, 室温孵育 5min		
试剂三	60	60
混匀, 于 510nm 处读值, $\Delta A = \text{测定} - \text{对照}$ (每个样本做一个自身对照)。		

五、结果计算：

1、标准曲线方程为 $y = 59.343x - 0.0132$ ；x 为标准品摩尔质量 (μmol)，y 为 ΔA 。



2、按样本重量计算：

$$\begin{aligned} \text{维生素 E 含量}(\mu\text{g/g 重量}) &= [(\Delta A + 0.0132) \div 59.343 \div V1 \times 4 \times V \times Mr] \div W \times D \\ &= 145.16 \times (\Delta A + 0.0132) \div W \times D \end{aligned}$$

3、按液体体积计算：

$$\begin{aligned} \text{维生素 E 含量}(\mu\text{g/mL}) &= [(\Delta A + 0.0132) \div 59.343 \div V1 \times 4 \times V \times Mr] \div V \text{液} \times D \\ &= 725.8 \times (\Delta A + 0.0132) \times D \end{aligned}$$

D---稀释倍数，未稀释即为 1；

W---样本质量，g；

V1---加入样本的上清液，0.1mL；

Mr---维生素 E 的分子量，430.713；

V---提取液中试剂一体积，0.5 mL；

V 液---液体样本取样量，0.2mL。

附：标准曲线制作过程：

- 1 制备标准品母液 (3mg/mL)：用前甩几下使液体落入底部 (共 30mg)，称取 3mg 标准品粉体至新 EP 管，再加入 1mL 无水乙醇溶解即母液为 3mg/mL。
- 2 把母液用乙醇稀释成六个浓度梯度的标准品：0, 6, 12, 18, 24, 30. $\mu\text{g/mL}$ 。
- 3 依据测定管的加样表操作 (把样本换成各个浓度标准品)，根据结果即可制作标准曲线。