

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

产品货号：E-BC-K033-S

产品规格：50 assays(48 samples)/100 assays(96 samples)

检测仪器：紫外-可见光分光光度计 (533 nm)

Elabscience®维生素 E(VE)比色法测试盒

Vitamin E (VE) Colorimetric Assay Kit

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

电话：400-999-2100

邮箱：biochemical@elabscience.cn

网址：www.elabscience.cn

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。

联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

用途

本试剂盒适用于检测动物血清（浆）、动植物组织中的 VE 含量。

检测原理

VE 在菲啰啉的存在下，可使三价铁离子还原成二价铁离子，后者在特定的环境下可与菲啰啉形成粉红色复合物，在 533 nm 处有最大吸收波长。通过比色可计算出 VE 的含量。

提供试剂和物品

编号	名称	规格 1 (Size 1) (50 Assays)	规格 2 (Size 2) (100 Assays)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	显色剂 (Chromogenic Agent)	粉剂×1 支	粉剂×1 支	2-8℃ 避光 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	铁试剂 (Ferrum Reagent)	粉剂×1 支	粉剂×1 支	2-8℃ 避光 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	终止剂 (Stop Solution)	6 mL×1 瓶	6 mL×1 瓶	2-8℃ 保存 6 个月
试剂四 (Reagent 4)	匀浆介质 (Homogenized Medium)	50 mL×2 瓶	50 mL×4 瓶	2-8℃ 保存 6 个月
试剂五 (Reagent 5)	1 mg/mL VE 标准品 (1 mg/mL VE Standard)	0.4 mL×1 支	0.4 mL×1 支	2-8℃ 避光 保存 6 个月

说明：试剂严格按上表中的保存条件保存，不同测试盒中的试剂不能混用。

对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。

所需自备物品

仪器：紫外-可见分光光度计（533 nm）、涡旋混匀仪、磁力搅拌器、微量移液器（1000 μL ，200 μL ，50 μL ，10 μL ）、离心机、容量瓶（25 mL）、烧杯（25 mL）。

耗材：枪头（1000 μL ，200 μL ，10 μL ）、EP管（10 mL、5 mL，2 mL）、吸水纸、擦镜纸、磁力搅拌子。

试剂：双蒸水、生理盐水（0.9% NaCl）或 PBS（0.01 M，pH 7.4）、无水乙醇、正庚烷。

试剂准备

① 检测前，试剂盒中的试剂平衡至室温。

② 试剂一工作液配制：

取试剂一粉剂用13 mL无水乙醇振荡溶解，避光保存。（此粉剂较难溶解，需要提前3-4小时配制）。

③ 试剂二工作液配制：

将试剂二粉剂溶于25 mL无水乙醇中配成试剂二储备液，2-8 $^{\circ}\text{C}$ 避光保存。将试剂二储备液用无水乙醇10倍稀释，制备试剂二工作液。工作液2-8 $^{\circ}\text{C}$ 避光保存2天。

④ 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 标准品配制：

将试剂五用无水乙醇稀释100倍，混匀即可。

样本准备

① 样本处理

样本要求:样本中不能含有 DTT、2-巯基乙醇等还原性试剂,不能添加 HEDP、EDTA 等整合剂

血清血浆样本:可直接测定。

组织样本:常规匀浆处理(匀浆介质为试剂四)。

② 样本的稀释

在正式检测前,需选择2-3个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验,根据预实验的结果,结合本试剂盒的线性范围:0.09-40 $\mu\text{g/mL}$,请参考下表稀释(仅供参考):

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
人血清	不稀释	大鼠血清	不稀释
人血浆	不稀释	大鼠血浆	不稀释
10%小鼠肝匀浆	不稀释	10%胡萝卜匀浆	不稀释

注:稀释液为生理盐水(0.9% NaCl)或 PBS(0.01 M, pH 7.4)。

实验关键点

① VE 的抽提时间 1 min, 显色时间 5 min, 要准确。

② 吸取 VE 正庚烷抽提液时,一定要小心,不可将第二层(即水与无水乙醇液相层)混入,否则会影响吸光值。同时,保证吸取出来的抽提液体积相等。

③ 在加试剂混匀静置时间,盖好 EP 管盖子,减少体系中无水乙醇及正庚烷的挥发对检测结果的影响。

样本中 VE 的抽提

血清(浆)样本

血清(浆)正庚烷 VE 抽提

- ① 空白管：依次取 0.3 mL 双蒸水、0.6 mL 无水乙醇，加入 5 mL EP 管中
标准管：依次取 0.3 mL 双蒸水、0.6 mL 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 标准品，加入 5 mL EP 管中；
测定管：依次取 0.3 mL 血清(浆)、0.6 mL 无水乙醇，加入 5 mL EP 管中。
- ② 涡旋混匀 20 s。
- ③ 向步骤 b 中的各管加入 1.0 mL 正庚烷，涡旋混匀 1 min。
- ④ 3100 \times g 离心 10 min，吸取 0.8 mL 上层正庚烷 VE 抽提液，进行显色反应。

操作表

	空白管	标准管	测定管
双蒸水(mL)	0.3	0.3	
血清(浆)(mL)			0.3
10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 标准品 (mL)		0.6	
无水乙醇(mL)	0.6		0.6
漩涡混匀 20 s(蛋白沉淀)			
正庚烷(mL)	1.0	1.0	1.0
漩涡混匀(充分抽提) 1 min, 3100 \times g 离心 10 min, 吸取 0.8 mL 上层正庚烷 VE 抽提液, 进行显色反应。			

组织匀浆样本

组织匀浆中正庚烷 VE 抽提

- ① 空白管：依次取 0.3 mL 双蒸水、0.6 mL 无水乙醇，加入 5 mL EP 管中
标准管：依次取 0.3 mL 双蒸水、0.6 mL 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 标准品，加入 5 mL EP 管中；
测定空白管：依次取 0.3 mL 试剂四、0.6 mL 无水乙醇，加入 5 mL EP 管中。
测定管：依次取 0.3 mL 组织匀浆、0.6 mL 无水乙醇，加入 5 mL EP 管中。
- ② 涡旋混匀 20 s。
- ③ 向步骤 b 中的各管加入 1.0 mL 正庚烷，涡旋混匀 1 min。
- ④ 3100 \times g 离心 10 min，吸取 0.8 mL 上层正庚烷 VE 抽提液，进行显色反应。

操作表

	空白管	标准管	测定空白管	测定管
双蒸水(mL)	0.3	0.3		
10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 标准品 (mL)		0.6		
组织匀浆(mL)				0.3
试剂四(mL)			0.3	
无水乙醇(mL)	0.6		0.6	0.6
漩涡混匀 20 秒 (蛋白沉淀)				
正庚烷(mL)	1.0	1.0	1.0	1.0
漩涡混匀 (充分抽提) 1 min, 3100 \times g 离心 10 min, 吸取 0.8 mL 上层正庚烷 VE 抽提液, 进行显色反应。				

显色反应

操作步骤

- ① 取各管 0.8 mL 的 VE 正庚烷抽提液，加入相应的 5 mL EP 管中。
- ② 向步骤①各管中，加入 0.1 mL 试剂一工作液、0.05 mL 试剂二工作液。
- ③ 涡旋混匀后立即计时，室温静置 5 min。
- ④ 向步骤③各管中，加入 0.05 mL 试剂三，立刻涡旋混匀 10 s。
- ⑤ 向步骤④各管中，加入 1 mL 无水乙醇，涡旋混匀。
- ⑥ 室温静置 2 min，波长 533 nm，0.5 cm 光径石英比色皿，无水乙醇调零，测定各管吸光度。

操作表

	空白管	标准管	测定空白管	测定管
正庚烷 VE 抽提液 (mL)	0.8	0.8	0.8	0.8
试剂一工作液(mL)	0.1	0.1	0.1	0.1
试剂二工作液(mL)	0.05	0.05	0.05	0.05
涡旋混匀，立刻记录时间，室温静置 5 min				
试剂三(mL)	0.05	0.05	0.05	0.05
涡旋混匀 (10 秒左右)				
无水乙醇(mL)	1.0	1.0	1.0	1.0
涡旋混匀，静置 2 min，波长 533 nm，0.5 cm 光径石英比色皿，无水乙醇调零，测定各管吸光度				

注：血清（浆）测定时，不做测定空白管；组织测定时，必须做测定空白管。

结果计算

血清(浆)计算公式:

$$\text{VE 含量} \begin{matrix} (\mu\text{g/mL}) \end{matrix} = \frac{\Delta A_1}{\Delta A_2} \times c \times f \times 2^*$$

组织计算公式:

$$\text{VE 含量} \begin{matrix} (\mu\text{g/g}) \end{matrix} = \frac{\Delta A_3}{\Delta A_2} \times c \times f \div \frac{m}{V} \times 2^*$$

注解:

ΔA_1 : 测定 OD 值-空白 OD 值

ΔA_2 : 标准 OD 值-空白 OD 值

ΔA_3 : 测定 OD 值-测定空白 OD 值

c: 标准品浓度 (10 $\mu\text{g/mL}$)

f: 样本加入检测体系前稀释的倍数

m: 组织样本重量 (g)

V: 组织样本处理过程中加入试剂四 (匀浆介质) 的体积 (mL)

*: 在样本 VE 的抽提步骤中, 10 $\mu\text{g/mL}$ 标准品加入量为 0.6 mL, 样本加入量为 0.3 mL, 故进行 VE 含量计算时要 $\times 2$

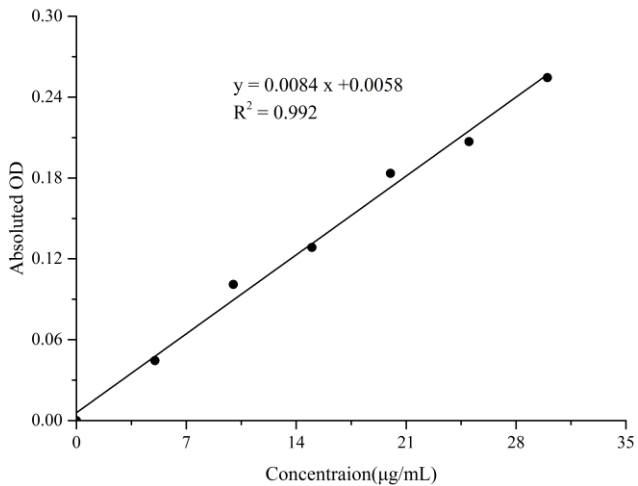
附录1 关键数据

1. 技术参数

检测范围	0.09-40 µg/mL	平均批间差	4.9 %
灵敏度	0.09 µg/mL	平均批内差	4.4 %
平均回收率	98 %		

2. 标准曲线(数据仅供参考)

标准曲线(数据仅供参考):



附录2 实例分析

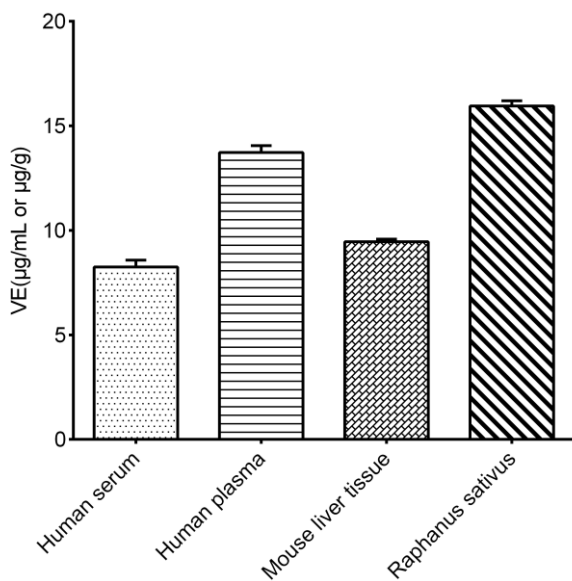
例如检测人血浆(数据仅供参考):

取0.3 mL人血浆,按说明书操作,结果如下:

空白管平均OD值为0.066,标准管平均OD值为0.157,测定管平均OD值为0.128,计算结果为:

$$\text{VE 含量} (\mu\text{g/mL}) = \frac{(0.128-0.066)}{(0.157-0.066)} \times 10 \times 2 = 13.72 \mu\text{g/mL}$$

按照说明书操作,测定人血清(加样量0.3 mL)、人血浆(加样量0.3 mL)、小鼠肝脏组织(10%组织匀浆,加样量0.3 mL)、白萝卜组织(10%组织匀浆,加样量0.3 mL)中VE含量(如下图):



附录3 问题答疑

问题	可能原因	建议解决方案
测值不稳定, 复孔差异大	微量移液器使用不熟练	小心加样, 避免液体溅到其它测样管中
	未严格按照说明书操作	操作前认真阅读产品说明书
样本和标准品显色很低	样本 VE 抽提不彻底	严格控制抽提时间, 保证各管时间相同
样本测不出值	样本含量较低	增加取样量或者浓缩样本
	样本保存时间过长或保存不当	取新鲜样本, 重新检测
样本测量结果 >40 $\mu\text{g/mL}$	样本浓度太高	选择合适的稀释倍数, 重新检测
读数数值低	用不恰当波长检测	选择正确的检测波长

声明

1. 试剂盒仅供研究使用, 如将其用于临床诊断或任何其他用途, 我公司将不对因此产生的问题负责, 亦不承担任何法律责任。
2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器, 严格按照说明书进行实验。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围。如果样品中待测物浓度过高或过低, 请对样本做适当的稀释或浓缩。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中, 建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责, 不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责, 使用前请充分考虑样本可能的使用量, 预留充足的样本。

附录4 客户发表文献

1. Du S, Zhou N, Xie G, et al. Surface-engineered triboelectric nanogenerator patches with drug loading and electrical stimulation capabilities: Toward promoting infected wounds healing[J]. *Nano Energy*, 2021, 85:106004. IF:17.087
2. Bartolini D, Arato I, Mancuso F, et al. Melatonin modulates Nrf2 activity to protect porcine pre-pubertal Sertoli cells from the abnormal H₂O₂ generation and reductive stress effects of cadmium. *J Pineal Res.* 2022;73 (1):e12806. IF:13.007
3. Yang Z, Wang J, Ai S, et al. Self-generating oxygen enhanced mitochondrion-targeted photodynamic therapy for tumor treatment with hypoxia scavenging[J]. *Theranostics*, 2019, 9(23): 6809. IF:11.556
4. Wan Q, Cao R, Wen G, et al. Sequential use of UV-LEDs irradiation and chlorine to disinfect waterborne fungal spores: Efficiency, mechanism and photoreactivation[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2022, 423:127102-. IF:10.588
5. Tian J, Wang L, Hui S, et al. Cadmium accumulation regulated by a rice heavy-metal importer is harmful for host plant and leaf bacteria. *J Adv Res.* 2022. IF:10.479
6. Jg A, Jie S B, Jy B, et al. Comparative toxicity reduction potential of UV/sodium percarbonate and UV/hydrogen peroxide treatments for bisphenol A in water: An integrated analysis using chemical, computational, biological, and metabolomic approaches[J]. *Water Research*, 2020, 190. IF:9.702
7. Yang X X, Xu X, Wang M F, et al. A nanoreactor boosts chemodynamic therapy and ferroptosis for synergistic cancer therapy using molecular amplifier dihydroartemisinin[J]. *Journal of Nanobiotechnology*, 2022, 20(1):1-19. IF:9.464
8. Liu Z, Liu X, Yang Q, et al. Neutrophil membrane-enveloped nanoparticles for the amelioration of renal ischemia-reperfusion injury in mice[J]. *Acta Biomaterialia*, 2020, 104: 158-166. IF:8.947
9. Huang S, Le H, Hong G, et al. An all-in-one biomimetic iron-small interfering RNA nanoplatform induces ferroptosis for cancer therapy. *Acta Biomater.* 2022;148:244-257. IF:8.291
10. Alharbi YM, Sakr SS, Albarrak SM, et al. Antioxidative, Antidiabetic, and Hypolipidemic Properties of Probiotic-Enriched Fermented Camel Milk Combined with *Salvia officinalis* Leaves Hydroalcoholic Extract in Streptozotocin-Induced Diabetes in Rats. *Antioxidants (Basel)*. 2022;11 (4):. IF:7.675