

(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-M**

**产品规格：48T(32 samples)/96T(80 samples)**

**检测仪器：酶标仪(525-533 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](mailto:biochemical@elabscience.cn)

网址：[www.elabscience.cn](http://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)、动植物组织中的维生素 E(VE)含量。

## 检测原理

维生素 E 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。通过比色可计算出维生素 E 的含量。

## 提供试剂和物品

编号	名称	规格 1 (Size 1)(48 T)	规格 2 (Size 2)(96 T)	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)	1.5 mL×1 支	1.5 mL×2 支	2-8℃ 保存 6 个月
试剂四 (Reagent 4)	匀浆介质 (Homogenized Medium)	50 mL×1 瓶	50 mL×2 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
	96 孔酶标板	1 板		
	96 孔覆膜	2 张		
	样本位置标记表	1 张		

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：**酶标仪(525-533 nm, 最佳检测波长 533 nm)、涡旋混匀仪、磁力搅拌器、烧杯、微量移液器(1000  $\mu$ L, 200  $\mu$ L, 50  $\mu$ L, 10  $\mu$ L)、离心机。

**耗材：**枪头(1000  $\mu$ L, 200  $\mu$ L, 10  $\mu$ L)、EP 管(10 mL、5 mL, 2 mL)。

**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，2-8°C避光可保存7天。(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°C避光可保存7天。将试剂二储备液用无水乙醇10倍稀释，制备试剂二工作液，现用现配。

④ 100  $\mu$ g/mL标准品配制：

取适量试剂五，用无水乙醇稀释10倍，混匀即可，现配现用。

⑤ 不同浓度标准品的稀释：

编号	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧
标准品浓度( $\mu$ g/mL)	0	5	10	15	20	25	30	40
100 $\mu$ g/mL 标准品 ( $\mu$ L)	0	25	50	75	100	125	150	200
无水乙醇 ( $\mu$ L)	500	475	450	425	400	375	350	300

## 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:0.95-40  $\mu\text{g/mL}$ ,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	10%大鼠肾组织	不稀释
小鼠血清	不稀释	10%大鼠肺组织	不稀释
鸡血清	不稀释	10%大鼠脾组织	不稀释
10%小鼠肝组织	不稀释	10%大鼠心组织	不稀释
10%小鼠脑组织	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,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 标准管：依次取 0.15 mL 双蒸水、0.3 mL 不同浓度标准品，加入 2 mL EP 管中；  
测定管：依次取 0.15 mL 血清(浆)、0.3 mL 无水乙醇，加入 2 mL EP 管中。。
- ② 涡旋混匀 20 s。
- ③ 向步骤 b 中的各管加入 0.5 mL 正庚烷，涡旋混匀 1 min。
- ④ 3100 ×g 离心 10 min，吸取 0.2 mL 上层正庚烷 VE 抽提液，进行显色反应。

#### 操作表

	标准管	测定管
双蒸水(mL)	0.15	
不同浓度标准品(mL)	0.3	
血清(浆)(mL)		0.15
无水乙醇(mL)		0.3
漩涡混匀 20 s(蛋白沉淀)		
正庚烷(mL)	0.5	0.5
漩涡混匀(充分抽提)1 min，3100 ×g 离心 10 min，吸取 0.2 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 标准管：依次取 0.15 mL 双蒸水、0.3 mL 不同浓度标准品，加入 2 mL EP 管中；  
测定空白管：依次取 0.15 mL 试剂四、0.3 mL 无水乙醇，加入 2 mL EP 管中。  
测定管：依次取 0.15 mL 组织匀浆、0.3 mL 无水乙醇，加入 2 mL EP 管中
- ② 涡旋混匀 20 s。
- ③ 向步骤 b 中的各管加入 0.5 mL 正庚烷，涡旋混匀 1 min。
- ④ 3100×g 离心 10 min，吸取 0.2 mL 上层正庚烷 VE 抽提液，进行显色反应。

### 操作表

	标准管	测定空白管	测定管
双蒸水(mL)	0.15		
不同浓度标准品(mL)	0.3		
组织匀浆(mL)			0.15
试剂四(mL)		0.15	
无水乙醇(mL)		0.3	0.3
漩涡混匀 20 s(蛋白沉淀)			
正庚烷(mL)	0.5	0.5	0.5
漩涡混匀(充分抽提)1 min, 3100 ×g 离心 10 min, 吸取 0.2 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 200  $\mu\text{L}$  的正庚烷抽提液，加入相应的 2 mL EP 管中。
- ② 向步骤①各管中，加入 25  $\mu\text{L}$  试剂一工作液、15  $\mu\text{L}$  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 15  $\mu\text{L}$  试剂三，立刻涡旋混匀 10 s 左右。
- ⑤ 向步骤④各管中，加入 250  $\mu\text{L}$  无水乙醇，涡旋混匀。
- ⑥ 室温静置 2 min，各取 200  $\mu\text{L}$  加入酶标板，酶标仪 533 nm 处，测定各孔 OD 值。

### 操作表

	标准管	测定空白管	测定管
正庚烷 VE 抽提液( $\mu\text{L}$ )	200	200	200
试剂一工作液( $\mu\text{L}$ )	25	25	25
试剂二工作液( $\mu\text{L}$ )	15	15	15
涡旋混匀，立刻记录时间，室温静置 5 min			
试剂三( $\mu\text{L}$ )	15	15	15
涡旋混匀(10 s 左右)			
无水乙醇( $\mu\text{L}$ )	250	250	250
旋涡混匀，室温静置 2 min，取 200 $\mu\text{L}$ 加入酶标板，酶标仪 533 nm 处，测定各孔 OD 值。			

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

标准品拟合曲线： $y = ax + b$

血清(浆)中 VE 含量计算公式：

$$\text{VE 含量} \begin{matrix} (\mu\text{g/mL}) \end{matrix} = (\Delta A_{533} - b) \div a \times f \times 2^*$$

组织中 VE 含量计算公式：

$$\text{VE 含量} \begin{matrix} (\mu\text{g/g}) \end{matrix} = (\Delta A_{533} - b) \div a \times f \times 2^* \div \frac{m}{V}$$

注解：

y: 标准品 OD 值-空白 OD 值(标准品浓度为 0 时的 OD 值)

x: 吸光度对应的浓度

a: 标曲斜率

b: 标曲截距

$\Delta A_{533}$ : 样本测定 OD 值-空白 OD 值 (血清(浆)样本是指标准品浓度为 0 的 OD 值; 组织样本是指测定空白 OD 值)

f: 样本加入检测体系之前的稀释倍数

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)

2\*: 在样本抽提步骤中, 标准品加入量为 0.3 mL, 样本加入量为 0.15 mL, 故进行 VE 计算时要 $\times 2$ 。

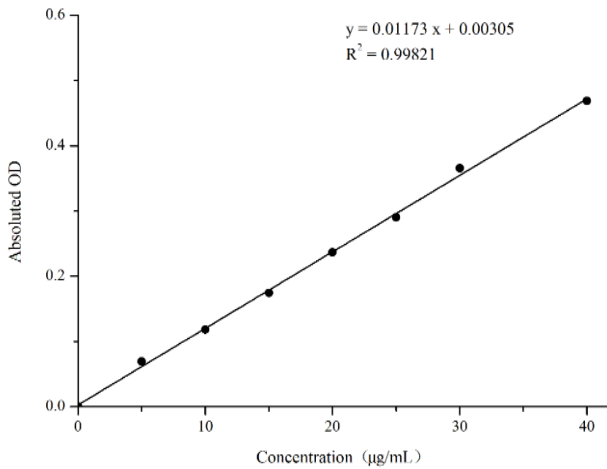


## 附录1 关键数据

### 1. 技术参数

检测范围	0.95-40 $\mu\text{g/mL}$	平均批间差	6.3 %
灵敏度	0.95 $\mu\text{g/mL}$	平均批内差	3.9 %
平均回收率	97 %		

### 2. 标准曲线(数据仅供参考)



## 附录2 实例分析

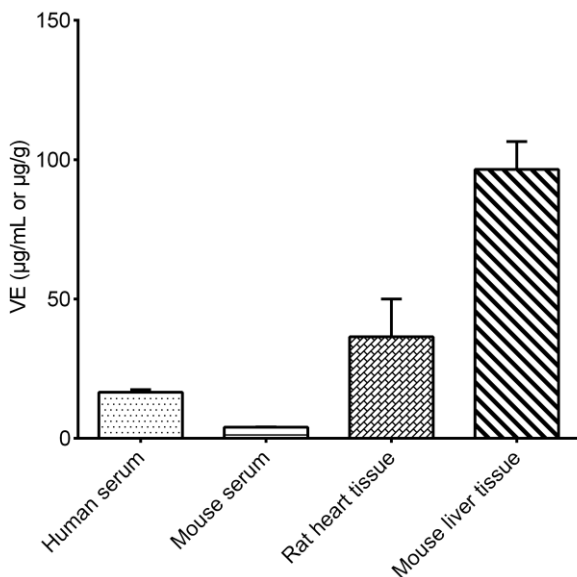
例如检测人血清(数据仅供参考):

取0.15 mL人血清, 进行正庚烷VE抽提, 然后按操作表检测, 结果如下:

标准曲线:  $y = 0.0094x + 0.0074$ , 测定孔平均OD值为0.152, 空白OD值为0.067, 带入公式计算结果为:

$$\text{VE 含量} = (0.152 - 0.067 - 0.0074) \div 0.0094 \times 2 = 16.51 \text{ (}\mu\text{g/mL)}$$

按照说明书操作, 测定人血清(0.15 mL)、小鼠血清(0.15 mL)、大鼠心脏组织(10%组织匀浆, 0.15 mL)、小鼠肝脏组织(10%组织匀浆, 0.15 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	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	适当稀释样本,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 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 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 nanoplatfrom 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