

维生素 E(Vitamin E)测定试剂盒

比色法：50 管/48 样

一、试剂组成及配制：

	试剂组成	50T/48 样	保存条件
试剂一	粉剂	粉剂×1 支	2~8℃避光保存
试剂一应用液的配制：溶于 6.5ml 无水乙醇中，避光保存，此粉剂较难溶解，需要提前 3~4 小时配制，使用前一定要确定粉剂完全溶解。			
试剂二	粉剂	粉剂×1 支	2~8℃避光保存
试剂二贮备液配制：溶于 25ml 无水乙醇配成贮备液避光保存。 试剂二应用液配制：取试剂二贮备液用无水乙醇 10 倍稀释，应用液 2~8 保存不可超过 2 天。			
试剂三	液体	5ml×1 瓶	2~8℃保存
试剂四	组成匀浆介质	100ml×1 瓶	2~8℃保存
试剂五	1mg/ml 标准贮备液	0.6ml×1 支	2~8℃保存

12 μg/mlVE 标准应用液配制：取 1mg/ml 的 VE 标准品贮备液 0.12ml 加无水乙醇定容至 10ml，即为 12 g/ml 的 VE 标准品应用液。

[注]：2~8℃密封保存，有效期 3 个月。

二、适用范围：

本试剂盒适用于检测动物血清（浆）、组织和植物等中 VE 的含量。

三、操作步骤：

(一)、血清（浆）中维生素 E 的测定：

1、血清（浆）正庚烷维生素 E 的抽提：

	空白管	标准管	测定管
血清（浆）(ml)			0.1
双蒸水 (ml)	0.4	0.3	0.3
12 μ g/ml VE 标准品 (ml)		0.1	
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)	1.2	1.2	1.2

漩涡混匀（充分抽提）1 分钟，然后 3000~4000 转/分，离心 5~10 分钟。

[注]：观察试管内液分为三层，最上层为正庚烷维生素 E 抽提液，第二层为水及无水乙醇，最下层为蛋白沉淀物。

2、显色反应：

	空白管	标准管	测定管
VE 正庚烷抽提液 (ml)	0.8	0.8	0.8
试剂一 (ml)	0.1	0.1	0.1
试剂二 (ml)	0.05	0.05	0.05
混匀，立即记录时间，准确静置 5 分钟			
试剂三 (ml)	0.05	0.05	0.05
混匀（10 秒左右）			

无水乙醇 (ml)	1	1	1
混匀, 静置 2 分钟后, 533nm 处, 1cm 光径比色皿, 无水乙醇调零, 测各管吸光度值。			

(二)、组织中维生素 E 的测定:

1、样本前处理:

10%组织匀浆的制备: 准确称取组织重量, 按重量 (g) : 体积 (ml) = 1: 9 的比例加入试剂四组织匀浆介质, 冰水浴条件下匀浆, 2500 转/分离心 10 分, 取上清待测。

3、组织匀浆中正庚烷维生素 E 的抽提:

	空白管	标准管	测定管
10%匀浆上清液 (ml)			0.4
双蒸水 (ml)	0.7	0.6	0.3
试剂二 (ml)	0.5	0.5	0.5
混匀, 立即记录时间, 准确静置 5 分钟			
试剂三 (ml)	0.5	0.5	0.5

混匀（10 秒左右）			
无水乙醇（ml）	1	1	1
漩涡混匀 20 秒（蛋白沉淀）			
正庚烷（ml）	1.2	1.2	1.2

漩涡混匀（充分抽提）1 分钟，然后 3000~4000 转/分，离心 5~10 分钟。

[注]: 观察试管内液分为三层，最上层为正庚烷维生素 E 抽提液，第二层为水及无水乙醇，最下层为蛋白沉淀物。

3、显色反应：

	空白管	标准管	测定管
VE 正庚烷抽提液（ml）	0.8	0.8	0.8
试剂一（ml）	0.1	0.1	0.1

试剂二 (ml)	0.5	0.5	0.5
混匀, 立即记录时间, 准确静置 5 分钟			
试剂三 (ml)	0.5	0.5	0.5
混匀 (10 秒左右)			
无水乙醇 (ml)	1	1	1
混匀, 静置 2 分钟后, 533nm 处, 1cm 光径比色皿, 无水乙醇调零, 测各管吸光度值。			

四、测定意义:

维生素 E (VE) 是天然脂溶性抗氧化剂, 它存在细胞膜性结构中 (细胞膜、线粒体、微粒体) 以及脂肪细胞的脂滴和循环的脂蛋白中。

VE 不但是单线态氧和超氧阴离子自由基的清除剂, 更重要的是脂质过氧化作用的阻断剂。从细胞水平的许多实验说明维生素 E 和 SoGSHPX 协同地保护细胞免受脂质过氧化损伤。VE 尚能直接与蛋白硫自由基偶联, 使蛋白巯基恢复活性, VE 也可通过清除 LOO 间接地防止蛋白巯基丧失。而蛋白巯基是维护细胞生存的重要环节, 因而 VE 是机体抗氧化的第一道防线。当维生素 E 缺乏时, 机体易受到自由基的攻击而表现出各种病理状态。例如: 老年性白内障、早衰等。

五、测定原理:

VE 在菲罗啉的存在下, 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罗啉形成粉红色复合物, 通过比色, 在标准曲线上可查出 VE 的含量, 或者通过公式可计算出 VE 的含量。

六、注意事项:

- 1、试管要用肥皂粉或洗涤剂煮开刷洗，再用自来水冲洗干净后双蒸水冲洗一遍。
- 2、2 号试剂应用液最好当天配制，需多少配多少。
- 3、显色时间 5 分钟，要准确。
- 4、维生素 E 的抽提时间 1 分钟要充分。
- 5、因本法为微量测定，故每换一次移液尖，首次吸液要丢弃，以后每次加样或加试剂均要垂直滴入，切勿加在管壁上。
- 6、吸取正庚烷抽提液时，一定要小心吸取，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。
- 7、显色所用试管要干燥。
- 8、本试剂盒仅用于科研、实验室。