

维生素 E(V_E)测定试剂盒说明书 (简化版)

(货号: A008-1-1 比色法)

一、试剂组成及配制 (50 管/48 样):

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

2、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
12 μ g/ml V _E 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。

3、显色反应：

	空白管	标准管	测定管
V _E 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。

四、测定意义：

维生素 E (V_E) 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。

V_E 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。V_E 尚能直接与蛋白硫自由基偶联，使蛋白巯基恢复活性，V_E 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 V_E 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：

V_E 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 V_E 的含量，或者通过公式可计算出 V_E 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。

南京建成生物工程研究所

地 址： 南京市中央路258-27号 电 话： (025) 83360321
新立基大厦11层1106室 83360969 83113890
邮 编： 210009 83112287(财务) 83360272(技术电话)
联 系 人： 季建平 传 真： (025) 83227943 83609960
投诉电话： (025) 57713719/13813881385短 信： 13815858329
建成主页： www.njjcbio.com (建成生物) E-mail: njjcbio@vip.163.com