DOI:10.16016/j.1000-5404.1989.03.013

血浆维生素E的荧光测定法

邵丽丽 陶 溶 （新桥医院 检验科）

维生素E含量的测定，常用的分析方法有分光光度法、荧光光度法、各种色谱法等。由于VE含量少，分光光度法干扰因素较多，灵敏度与准确性较差。而色谱法步骤繁琐，仪器设备昂贵，一般实验室不具备。荧光分析法操作简便，试剂单一，是目前实验室较为理想和实用的一种方法。我们参照《酶学方法》105卷中“动物组织中VE的分析方法”及侯少范等《生物材料中生育酚的荧光测定法》，对人血浆中维生素E进行了荧光测定，结果较满意，现介绍如下：

材 料 和 方 法

1．原理

VE经皂化、己烷提取，用荧光光度计测其自然荧光强度。

2．仪器

日本岛津RF-540型荧光分光光度计。

3．测量条件

激发光波长295nm，发射光波长325nm，狭缝5nm，灵敏度开关“高”。

4．试剂

（1）正己烷（AR）：杭州炼油厂生产

（2）无水乙醇（GR）

（3）10N 氢氧化钾（AR）

（4）标准液：dl-a-生育酚(DL-a-tocopherol E Merck)

1ml=1mg标准贮存液，无水乙醇配制。棕色瓶内4°C以下可保存三个月。用时无水乙醇稀释成1ml=5μg标准应用液，4℃冰箱内贮存可用两周。

5．样品

肝素抗凝血，分离后取血浆。

6．方法

接下表操作。

	测定管	标准管	空白管
血 浆	0.5ml	—	—
5μg/ml标准应用液	—	1.0ml	—
0.9%氯化钠液	1.0ml	1.5ml	1.5ml
25%抗坏血酸液	0.5ml	0.5ml	0.5ml
无水乙醇	1.0ml	—	1.0ml
	70℃预温3min		
10N氢氧化钾液	1.0ml	1.0ml	1.0ml
70℃水浴30min(摇动数次)，取出冷水中至室温			
正己烷	4.0ml	4.0ml	4.0ml

混旋器混合 2 min，静置分层，吸取己烷相测定荧光强度。

7．计算

$$\frac{\text{样品荧光强度}-\text{空白荧光强度}}{\text{标准荧光强度}-\text{空白荧光强度}}\times 5\times\frac{1}{0.5}=\mu g/ml$$

结 果 与 讨 论

1．光谱特性

我们在280～350nm处做荧光扫描，于295nm处标准与样品有一致的激发峰值，在325nm处有一致的发射峰值，两峰均尖锐，表明其特异性好，与侯少范等的报道是一致的。（见图1、图2）

2．标准曲线及线性

以不同浓度的VE标准液（2、4、8、16、20、30μg）测定荧光强度，在30μg内浓度与荧光强度线性好(r=0.999)。

3．回收率

在浓度为6.67μg/ml的同一份样品中分别加入不同浓度的标准VE(4.0、10、20μg)回收率分别为98%、101%、109%，均值为103%。

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

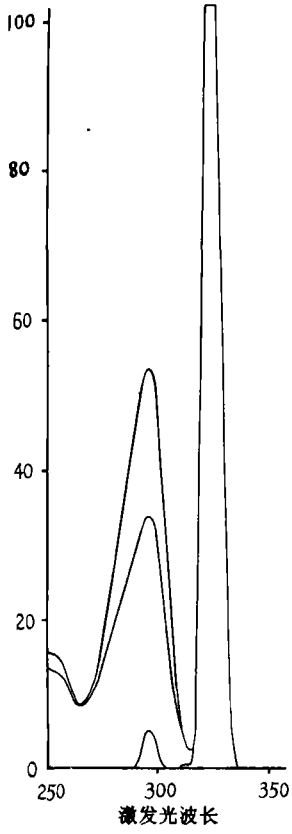


图1 激发峰值

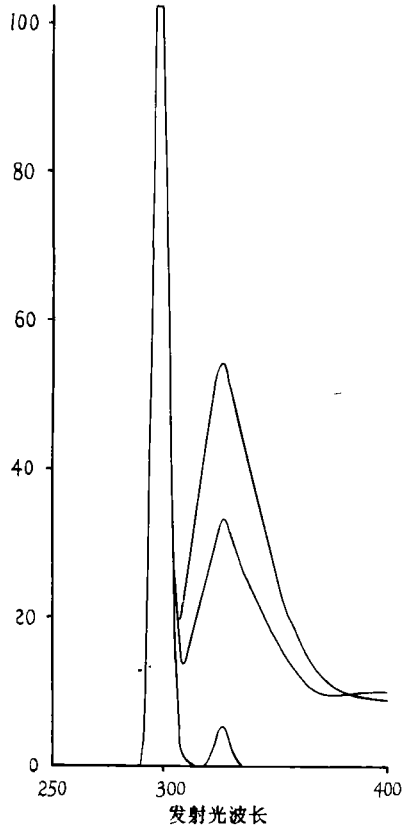


图2 发射峰值

4. 重复性试验

将含量为10μg/ml的同一份血浆样品平行测定30管，批内CV值为1.6%；将含量为7.38μg/ml的一份血浆样品每日做5管，共做6天，批间CV值为4.0%。

5. 荧光稳定性

将含量为8.78μg/ml的血浆样品分别在5、10、15、25、30、60、120、180min时测定荧光强度，在3h内无明显变化，说明此法的荧光强度是稳定的。

6. 正常参考值

VE测定近年来才开展，又多为实验动物，因此正常值报道甚少，国内由于设备限制，方法不同等，正常值亦不同。我们做了正常体检人（工人、干部、农民等）101人，男58、女43，年龄16～68岁，$\bar{X}\pm SD$ 7.38±1.185μg/ml，范围4.1～10.8μg/ml，经统计学分析，男女无明显差异，（$P>0.05$）。

7. 样品存放

VE通常以醋酸脂的形式存于体内，血浆中浓度稳定。将浓度为7.38μg/ml的血浆样品于4℃保存一周，含量无明显变化。

VE在碱性环境中加热极易被氧化，抗坏血酸是最有效的抗氧化剂，因此抗坏血酸的浓度与质量非常重要，用时应新鲜配制。如果颜色发黄应弃之。

所使用的全部试剂不能含荧光杂质，必要时应提纯后用。所用试管、吸管等器皿，均需用重蒸馏水冲洗，所用试剂应禁止接触塑料及橡胶。

参考文献

1. Indrajit DD. Vitamin E analysis methods of animal tissues. Methods in Enzymology 1984; 105:138～147
2. 侯少范、朱振源。生物材料中生育酚的荧光测定法。分析化学 1982;10(9):535～539
3. 俞传德。自由基清除剂的某些研究进展。新药与临床 1986; 9 (5):305～307
4. 郑昌学，等译。维生素手册。科学普及出版社 1981:56～61

（收稿：1989.1.23；修回：1989.3.24）

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net