

## 维生素B1(VB1)含量检测试剂盒（微量法）

产品货号: BA1890

产品规格: 100管/96样

### 产品说明:

维生素B1 (Vitamin B1) 又称硫胺素, 以辅酶形式参与糖的分解代谢, 在生物体能量代谢中有重要的作用。

VB1在碱性条件下还原铁氰化钾生成亚铁氰化钾, 亚铁氰化钾与 $\text{Fe}^{3+}$ 在弱酸条件下生成普鲁士蓝, 测定普鲁士蓝在704nm下的特征吸收峰, 即可反映VB1的含量。

### 技术指标:

最低检出限: 0.057 $\mu\text{g}/\text{mL}$

线性范围: 1.953-250 $\mu\text{g}/\text{mL}$

注意: 实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

### 产品组成:

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体70mL×1瓶	2-8℃
稀释液	液体100mL×1瓶	2-8℃
试剂一	液体2.5mL×1瓶	2-8℃
试剂二	液体3mL×1瓶	2-8℃
试剂三	液体3mL×1瓶	2-8℃
试剂四	液体7mL×1瓶	2-8℃
试剂五	液体4mL×1瓶	2-8℃
标准品	粉剂×1支	2-8℃

### 溶液的配制:

1. 提取液: 内含不溶物, 使用前摇匀;
2. 标准品: 10mg维生素B1。临用前加入1mL稀释液, 配成10mg/mL (即10000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 的标准液。

### 需自备的仪器和用品:

可见分光光度计/酶标仪、台式离心机、水浴锅、微量玻璃比色皿/96孔板、可调式移液枪、研钵/匀浆器、EP管、冰和蒸馏水。

### 操作步骤 (仅供参考):

#### 一、样本处理 (可适当调整待测样本量, 具体比例可以参考文献)

1. 组织: 将样本磨碎, 按照质量 (g): 提取液体积 (mL) 为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g, 加入 0.6mL 提取液) 加入提取液, 60℃浸提 30min, 加蒸馏水 0.4mL, 混匀后于 25℃, 13000g 离心 10min, 取上清测定 (动物组织、豆类种子等蛋白含量较高的样本建议离心 20-30 分钟或反复离心 2-3 次至上清无浑浊)。
2. 细胞: 按照细胞数量 ( $10^4$  个): 提取液体积 (mL) 为 500~1000: 1 的比例 (建议 500 万细胞加入 0.6mL 提取液), 冰浴超声波破碎细胞 (功率 300w, 超声 3 秒, 间隔 7 秒, 总时间 3min); 加蒸馏水 0.4mL, 混匀后于 25℃, 13000g 离心 10min, 取上清测定。
3. 液体: 直接检测。

#### 二、测定步骤

1. 分光光度计/酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 704nm, 分光光度计蒸馏水调零。
2. 将 10mg/mL (10000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 标准液用稀释液稀释为 250、125、62.5、31.25、15.625、7.8125 $\mu\text{g}/\text{mL}$  的标准溶液备用。
3. 标准品稀释表:



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com

序号	稀释前浓度 (μg/mL)	标准液体积 (μL)	稀释液体积 (μL)	稀释后浓度 (μg/mL)
1	10000	25	975	250
2	250	200	200	125
3	125	200	200	62.5
4	62.5	200	200	31.25
5	31.25	200	200	15.625
6	15.625	200	200	7.8125

实验中每个标准管需 25μL 标准溶液。

#### 4. 操作表 (在 1.5mLEP 管中进行下列操作) :

试剂名称 (μL)	测定管	标准管	空白管
样本	25	-	-
稀释液	-	-	25
标准品溶液	-	25	-
试剂一	20	20	20
试剂二	25	25	25
充分混匀, 80°C 水浴反应 30min。			
试剂三	20	20	20
试剂四	55	55	55
试剂五	30	30	30
蒸馏水	75	75	75
充分混匀, 反应 5min, 吸取 200μL 于微量玻璃比色皿或 96 孔板中测定 704nm 处吸光值 A, 计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}$ , $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$ (空白管只需做 1-2 次)。			

### 三、维生素 B1 含量计算

#### 1. 标准曲线的绘制:

以各个标准溶液的浓度为 x 轴, 其对应的  $\Delta A_{\text{标准}}$  为 y 轴, 绘制标准曲线, 得到标准方程  $y = kx + b$ , 将  $\Delta A$  代入方程得 x (μg/mL)。

#### 2. 维生素 B1 含量的计算:

(1) 按样本蛋白浓度计算:  $VB1 (\mu\text{g}/\text{mg prot}) = x \times V_{\text{样总}} \div (Cpr \times V_{\text{样总}}) = x \div Cpr$

(2) 按样本质量计算:  $VB1 (\mu\text{g}/\text{g 质量}) = x \times V_{\text{样总}} \div W = x \div W$

(3) 按细胞数量计算:  $VB1 (\mu\text{g}/10^4 \text{ cell}) = x \times V_{\text{样总}} \div \text{细胞数量 (万个)} = x \div \text{细胞数量 (万个)}$

(4) 按液体体积计算:  $VB1 (\mu\text{g}/\text{mL}) = x$

V 样总: 样本总体积, 1mL; Cpr: 样本蛋白浓度, mg/mL; W: 样本质量, g。

#### 注意事项:

- 如果测定吸光值超过线性范围吸光值, 可以增加样本量或者稀释样本后再进行测定。
- 蛋白浓度较高的样本, 比如动物组织, 豆类种子等建议将样本稀释 20 倍或 40 倍后再测定并在计算公式中乘以稀释倍数。
- 显色完成后立即进行测定, 若显色完成后有沉淀产生, 将其摇匀后测定。



扫一扫 加微信

**郑州乐业生物科技有限公司**

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com