



维生素 B1 (VB1) 含量检测试剂盒说明书

微量法

货号: BC4195

规格: 100T/96S

产品组成: 使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致, 有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

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

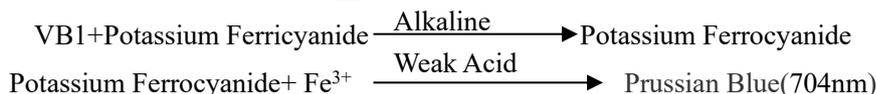
溶液的配制:

- 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 μ g/mL) 的标准液。

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Fe³⁺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 μ g/mL线性范围: 1.953-250 μ g/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。

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:

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（10⁴ 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（10000μg/mL）标准液用稀释液稀释为250、125、62.5、31.25、15.625、7.8125μg/mL的标准溶液备用。

3、标准品稀释表

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1.5mL EP管中进行下列操作）：

	测定管	标准管	空白管
样本（μL）	25	-	-
稀释液（μL）	-	-	25
标准品溶液（μL）	-	25	-
试剂一（μL）	20	20	20
试剂二（μL）	25	25	25
充分混匀，80℃水浴反应30min。			
试剂三（μL）	20	20	20
试剂四（μL）	55	55	55
试剂五（μL）	30	30	30
蒸馏水（μL）	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ΔA标准为y轴，绘制标准曲线，得到标准方程y=kx+b，将ΔA带入方

程得x (μg/mL)。

2、维生素B1含量的计算:

(1) 按蛋白浓度计算: $VB1 (\mu\text{g}/\text{mg prot}) = x \times V_{\text{样总}} \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样总}}) = x \div C_{\text{pr}}$

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

(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:

1. 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。
2. 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。
3. 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。

实验实例:

- 1、称取 0.1g 肝脏, 加入 0.6mL 提取液, 60°C浸提 30min, 加蒸馏水 0.4mL, 混匀后于 25°C, 13000rpm 离心 10min, 取上清, 将上清稀释 40 倍之后按照测定步骤操作, 使用 96 孔板测得计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}} = 0.551 - 0.107 = 0.444$, 带入标准曲线 $y = 0.0054x + 0.0043$, 计算 $x = 81.43 \mu\text{g}/\text{mL}$, 按样本质量计算 VB1 含量得:
 $VB1 (\mu\text{g}/\text{g 质量}) = x \times V_{\text{样总}} \div W \times 40 (\text{稀释倍数}) = 81.43 \times 1 \div 0.1 \times 40 = 32572 \mu\text{g}/\text{g 质量}$ 。
- 2、称取 0.1g 稗草, 加入 0.6mL 提取液, 60°C浸提 30min, 加蒸馏水 0.4mL, 混匀后于 25°C, 13000rpm 离心 10min, 取上清, 将上清稀释 40 倍之后按照测定步骤操作, 使用 96 孔板测得计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}} = 0.727 - 0.107 = 0.62$, 带入标准曲线 $y = 0.0054x + 0.0043$, 计算 $x = 114.02 \mu\text{g}/\text{mL}$, 按样本质量计算 VB1 含量得:
 $VB1 (\mu\text{g}/\text{g 质量}) = x \times V_{\text{样总}} \div W \times 40 (\text{稀释倍数}) = 114.02 \times 1 \div 0.1 \times 40 = 45608 \mu\text{g}/\text{g 质量}$ 。

相关系列产品:

BC2110/BC2115 维生素 B6 (VB6) 含量检测试剂盒

BC1420/BC1425 维生素 E (VE) 含量检测试剂盒

