

## 维生素 B1 检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1242

保存：4℃避光保存 12 个月

规格：48T/96T

检测范围：0.2-0.00313mg/mL（标准品的检测范围） 灵敏度：0.00313mg/mL（标准品的灵敏度）

适用样本：动植物组织、细胞、细菌、液体样本

### 产品简介

维生素 B1 (Vitamin B1) 又称硫胺素，是构成脱羧辅酶的主要成分，以辅酶形式参与糖的分解代谢。参与细胞代谢中的三羧酸循环，是维持机体正常代谢必须的水溶性维生素，在生物体能量代谢中有重要的作用。本试剂盒提供了一种简单易用的比色法，用于分析各种生物样品中维生素 B1 含量。其原理是 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  $Fe^{3+}$  在弱酸条件下生成普鲁士蓝，在 704nm 有特征吸收峰。测定普鲁士蓝在 704nm 下的特征吸收峰，即可反映 VB1 的含量。

### 产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
提取液	35mL	70mL	4℃保存
试剂一	3mL	3mL	4℃保存
试剂二	1mL	2mL	4℃保存
试剂三	1.5mL	3mL	4℃避光保存
试剂四	3mL	6mL	4℃保存
试剂五	1.5mL	3mL	4℃避光保存
标准品	粉剂×1支	粉剂×1支	4℃保存

### 自备耗材

酶标仪或可见光分光光度计（能测 704nm 处的吸光度）及水浴锅

96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头

离心机

去离子水

匀浆器（如果是组织样本）

### 试剂准备

提取液：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

试剂一：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

试剂二：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

试剂三：即用型；使用前，平衡到室温；4℃避光保存。

试剂四：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

试剂五：即用型；使用前，平衡到室温；4℃避光保存。

标准品：含 10mg 维生素 B1，临用前加入 1mL 试剂一，配成 10mg/mL 的标准液。溶解后的标准品可 4℃保存 1 个月或 -20℃长期保存。

## 产品说明书

标准曲线设置：按下表所示，用试剂一将 10mg/mL 标准品稀释为 0.2、0.1、0.05、0.025、0.0125、0.00625、0.00313mg/mL 的标准溶液。

	标准品体积 (μL)	试剂一体积 (μL)	标准品浓度 (mg/mL)
标准品 1	8μL 10mg/mL	392	0.2
标准品 2	200μL of 标准品 1 (0.2mg/mL)	200	0.1
标准品 3	200μL of 标准品 2 (0.1mg/mL)	200	0.05
标准品 4	200μL of 标准品 3 (0.05mg/mL)	200	0.025
标准品 5	200μL of 标准品 4 (0.025mg/mL)	200	0.0125
标准品 6	200μL of 标准品 5 (0.0125mg/mL)	200	0.00625
标准品 7	200μL of 标准品 6 (0.00625mg/mL)	200	0.00313

**注意：每次实验，请使用新配制的标准品。**

### 样本制备

组织：称取约 0.1g 样本，加入 0.6mL 提取液匀浆，60℃浸提 30min，加去离子水 0.4mL，混匀后于 25℃，13,000g 离心 10min，取上清测定（动物组织及其他蛋白含量较高的样本建议离心 20-30 分钟或反复离心 2-3 次至上清无混浊）。

细胞或细菌：收集 500 万细胞或细菌到离心管内，用冷 PBS 清洗细胞或细菌，离心后弃上清，加入 0.6mL 提取液，超声波破碎细胞或细菌 5min（功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次），60℃浸提 30min，加去离子水 0.4mL，混匀后于 25℃，13,000g 离心 10min，取上清测定。

液体样本：直接检测。

**注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存 6 个月。如需测定蛋白浓度，推荐使用 BCA 法蛋白质定量试剂盒进行样本蛋白质浓度测定。**

### 实验步骤

1. 酶标仪或可见分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 704nm，可见分光光度计去离子水调零。
2. 样本测定（在 96 孔板或微量玻璃比色皿中依次加入下列试剂）：

	标准 (μL)	空白 (μL)	测定 (μL)
样本	0	0	20
试剂一	0	20	0
标准品	20	0	0
试剂二	16	16	16
试剂三	20	20	20
充分混匀，80℃水浴反应 10min			
提取液	16	16	16
试剂四	44	44	44
试剂五	24	24	24
去离子水	60	60	60

充分混匀，静置 20min，吸取 100μL 于微量石英比色皿/96 孔板，测定 704nm 处吸光值 A，计算  $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。空白和标准曲线只需要测一次。

**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  $\Delta A_{\text{测定}}$  小于 0.005 可适当加大样本量。如果  $\Delta A_{\text{测定}}$  大于 1.0，样本可用去离子水进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数。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。**

### 结果计算

1. 标准曲线的绘制：

## 产品说明书

以标准品浓度为 y 轴， $\Delta A_{\text{标准}}$  为 x 轴，绘制标准曲线（浓度为 y 轴更方便计算结果）。将  $\Delta A_{\text{测定}}$  带入方程计算出 y 值 (mg/mL)。

### 2. 样本维生素 B1 含量计算

(1) 按样本质量计算：VB1 (mg/g 质量) =  $y \times V_{\text{提取}} \div W = y \div W$

(2) 按液体样本体积计算：VB1 (mg/mL) =  $y \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样}} = y$

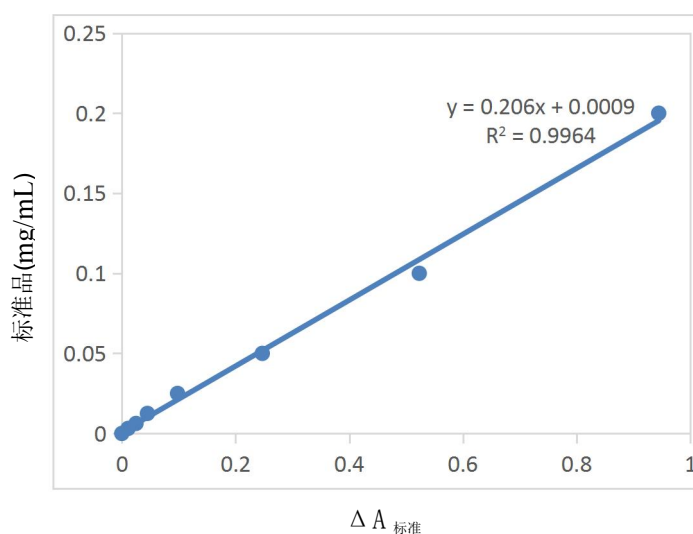
(3) 按细胞或细菌细胞数量计算：VB1 (mg/ $10^4$  cells) =  $y \times V_{\text{提取}} \div \text{细胞数量 (万个)} = y \div \text{细胞数量}$

(4) 按蛋白浓度计算：VB1 (mg/mg prot) =  $y \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) = y \div \text{Cpr}$

$V_{\text{提取}}$ ：样本提取体积，1mL； $V_{\text{样}}$ ：加入的样本体积，0.04mL；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；细胞数量：以万为单位。

### 结果展示

#### 典型标准曲线



### 注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验，尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究，如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途，我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用，并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用；否则，可能导致结果异常。
5. 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。

### 相关产品：

PMK1243 维生素 B6 检测试剂盒（微量法）

PMK1241 维生素 E 检测试剂盒（微量法）

PMK1030 还原型抗坏血酸 (AsA) / 维生素 C 检测试剂盒（微量法）

PMK1164 葡萄糖检测试剂盒（微量法）

PMK1175 植物可溶性糖检测试剂盒（微量法）

PMK1181 还原糖检测试剂盒（微量法）

更多产品详情了解，请关注公众号：

