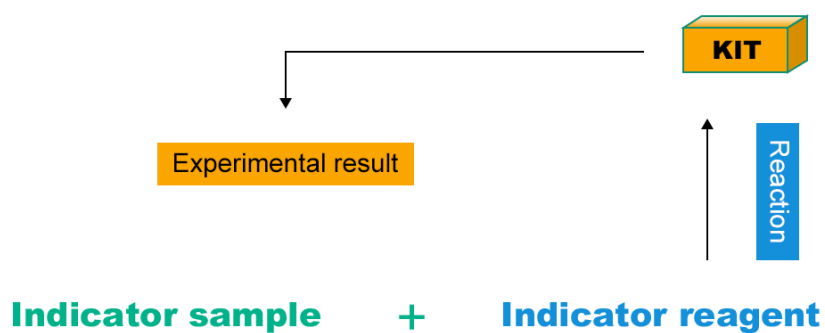


上海茁彩生物科技有限公司
ZCIBIO Technology Co., Ltd



生化检测原理示意图

Cat. NO: ZC-S0521

Size: 100T/96S

维生素 B1 (VB1) 检测试剂盒说明书

微量法

*正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

一、测定意义:

维生素B1 (Vitamin B1) 是构成脱羧辅酶的主要成分, 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。

二、测定原理:

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。

三、需自备的仪器和用品:

天平、研钵、离心机、可见分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96孔板、恒温水浴锅、蒸馏水。

四、试剂的组成和配置:

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 70mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	液体 1mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二	液体 2mL×1 支	4℃保存	
试剂三	液体 2mL×1 支	4℃避光保存	
试剂四	液体 5mL×1 瓶	4℃保存	
试剂五	液体 3mL×1 瓶	4℃避光保存	

五、样本处理

1. 组织：将样品磨碎，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℃，16000rpm离心10min，取上清测定（动物组织等蛋白含量较高的样本建议离心20-30min）。
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℃，16000rpm离心10min，取上清测定。
3. 血清：直接测定。

六、测定操作

	空白管	测定管
样品（μL）		20
试剂一（μL）	20	
试剂二（μL）	16	16
试剂三（μL）	20	20
充分混匀，80℃反应 10min		
提取液（μL）	16	16
试剂四（μL）	44	44
试剂五（μL）	24	24
H ₂ O（μL）	60	60
充分混匀，静置20min，于微量石英比色皿/96孔板，蒸馏水调零，测定704nm处吸光值，记为A 空白管和A测定管， $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}$ 。		

七、计算公式

- 用微量石英比色皿测定的计算公式如下

标准曲线: $y=0.1902x-0.1833$, $R^2=0.9991$

1. 按照蛋白含量计算

$$\begin{aligned}\text{VB1 含量 } (\mu\text{g}/\text{mg prot}) &= (\Delta A + 0.1833) \div 0.1902 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \\ &= 52.58 \times (\Delta A + 0.1833) \div C_{\text{pr}}\end{aligned}$$

2. 按照样本质量计算

$$\begin{aligned}\text{VB1 含量 } (\mu\text{g}/\text{g}) &= (\Delta A + 0.1833) \div 0.1902 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times W \div V_{\text{样总}}) \\ &= 52.58 \times (\Delta A + 0.1833) \div W\end{aligned}$$

3. 按照细胞数量计算

$$\begin{aligned}\text{VB1 含量 } (\mu\text{g}/10^4\text{cell}) &= (\Delta A + 0.1833) \div 0.1902 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times \text{细胞数量} \div V_{\text{样总}}) \\ &= 52.58 \times (\Delta A + 0.1833) \div \text{细胞数量}\end{aligned}$$

4. 按照液体体积计算

$$\text{VB1 含量 } (\mu\text{g}/\text{mL}) = (\Delta A + 0.1833) \div 0.1902 \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} = 52.58 \times (\Delta A + 0.1833)$$

$V_{\text{反总}}$: 反应总体积, 0.2mL; $V_{\text{样}}$: 加入样本体积, 0.02mL; $V_{\text{样总}}$: 加入提取液体积, 1mL; C_{pr} : 蛋白浓度, mg/mL; W : 样本质量, g

- 用 96 孔板测定的计算公式如下

标准曲线: $y=0.0951x-0.1833$, $R^2=0.9991$

1. 按照蛋白含量计算

$$\begin{aligned}\text{VB1 含量 } (\mu\text{g}/\text{mg prot}) &= (\Delta A + 0.1833) \div 0.0951 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \\ &= 105.16 \times (\Delta A + 0.1833) \div C_{\text{pr}}\end{aligned}$$

2. 按照样本质量计算

$$\text{VB1 含量 (}\mu\text{g/g)} = (\Delta A + 0.1833) \div 0.0951 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times W \div V_{\text{样总}})$$

$$= 105.16 \times (\Delta A + 0.1833) \div W$$

3. 按照细胞数量计算

$$\text{VB1 含量 (}\mu\text{g}/10^4\text{cell)} = (\Delta A + 0.1833) \div 0.0951 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times \text{细胞数量} \div V_{\text{样总}})$$

$$= 105.16 \times (\Delta A + 0.1833) \div \text{细胞数量}$$

4. 按照液体体积计算

$$\text{VB1 含量 (}\mu\text{g/mL)} = (\Delta A + 0.1833) \div 0.0951 \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} = 105.16 \times (\Delta A + 0.1833)$$

$V_{\text{反总}}$: 反应总体积, 0.2mL; $V_{\text{样}}$: 加入样本体积, 0.02mL; $V_{\text{样总}}$: 加入提取液体积, 1mL; C_{pr} : 蛋白浓度, mg/mL; W : 样本质量, g

八、注意事项

1. 若测定结果中吸光值超过 2, 请将样本稀释后进行测定, 并在计算公式中乘以稀释倍数。
2. 蛋白浓度较高的样品, 比如动物组织, 若显色完成后有沉淀产生, 将样本稀释后再重新测定, 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。