



## 维生素 B<sub>1</sub> 检测试剂盒(荧光光度法)

### 简介:

维生素 B<sub>1</sub>(Vitamin B<sub>1</sub>)又称硫胺素, 属于水溶性维生素, 在有氧化剂存在时容易被氧化产生脱氢硫胺素, 后者在有紫外光照射时呈现蓝色荧光。

源叶生物 维生素 B<sub>1</sub> 检测试剂盒(荧光光度法)是利用 Vitamin B<sub>1</sub> 水溶液在碱性盐溶液中能被氧化成蓝色的硫色素(一种荧光化合物), 在紫外线下硫色素发出荧光, 在激发波长 365nm, 发射波长 435nm, 在没有其他荧光物质干扰时荧光强度与硫色素的浓度呈正比, 可定量检测维生素 B<sub>1</sub> 的含量, 如果样品中存在干扰物质, 可用沸石吸附 Vitamin B<sub>1</sub>, 以便去除待测样品中干扰荧光测定的杂质。该试剂盒仅用于科研领域, 不适用于临床诊断或其他用途。

### 组成:

名称	编号	R22432	Storage
试剂(A): Vitamin B <sub>1</sub> 标准(100µg/ml)		50T	4°C 避光
试剂(B): 组织匀浆液(10×)		250ml	RT
试剂(C): 样品校正液		100ml	RT
试剂(D): 沸石		100g	RT
试剂(E): 样品洗脱液		500ml	RT
试剂(F): Vitamin B <sub>1</sub> 氧化液		120ml	RT
试剂(G): Vitamin B <sub>1</sub> 检测液		30ml	RT 避光
试剂(H): 硫酸盐		100g	RT
试剂(I): 亚硫酸盐		3×100mg	RT
使用说明书		1份	

## 自备材料:

- 1、蒸馏水
- 2、pH 计
- 3、离心管或试管
- 4、正丁醇
- 5、荧光光度计

## 操作步骤(仅供参考):

1、稀释组织匀浆液: 按组织匀浆液(10×):蒸馏水=1: 9 的比例稀释, 获得 1×组织匀浆液。

2、稀释标准品: 取适量的 Vitamin B<sub>1</sub> 标准(100μg/ml), 按 Vitamin B<sub>2</sub> 标准(100μg/ml): 蒸馏水=1: 99 稀释成 Vitamin B<sub>1</sub> 标准(1μg/ml), 4℃避光保存。

3、制备亚硫酸盐工作液: 取一支试剂(I)-亚硫酸盐 100mg 粉末, 充分溶解于 0.5ml 蒸馏水中配制成 200mg/ml 的亚硫酸盐工作液, 即配即用。

4、(选做)制备样品: 取待测材料如麦麸等, 准确称量 2~5g, 加入研磨器内, 加入少量 1×组织匀浆液, 研磨碎, 再次用 1×组织匀浆液研磨, 最后一并倒入 50ml 离心管, 补充 1×组织匀浆液至 25ml, 充分混匀, 沸水中孵育 30min, 冷却至室温, 用样品校正液调节 pH 至 4.5, 3500g 离心 10min, 取上清加入 2g 沸石, 振摇 30min, 弃液, 蒸馏水清洗沸石 2 次, 弃洗液, 加入 2.5ml 样品洗脱液搅拌沸石, 洗脱 2~3 次, 将洗脱液合并, 并用样品洗脱液定容至 10ml, 即为样品净化液。

5、Vitamin B<sub>1</sub> 氧化: 按下表操作, 注意避光操作。

加入物(ml)	空白管	测定管	标准空白管	标准管
Vitamin B <sub>1</sub> 标准(1μg/ml)	—	—	2.5	2.5
样品净化液	2.5	2.5	—	—
Vitamin B <sub>1</sub> 氧化液	1.5	0.9	1.5	0.9
Vitamin B <sub>1</sub> 检测液	—	0.6	—	0.6



上海源叶生物科技有限公司  
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd  
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248  
网址: [www.shyuanye.com](http://www.shyuanye.com)  
邮箱: [shyysw@sina.com](mailto:shyysw@sina.com)

振摇 15s				
正丁醇	5	5	5	5
剧烈振摇 90s, 静置分层, 吸取下层溶液丢弃; 上层溶液加入 1.5g 硫酸盐混匀使脱水。				

6、Vitamin B<sub>1</sub> 检测: 选用恰当的滤色片, 测定的激发波长为 365nm, 发射波长为 435nm, 提前预热仪器 30min, 分别检测测定管和标准管的荧光值, 同时向空白管和标准空白管的剩余液中加入 0.05ml 亚硫酸盐工作液, 立即混匀, 在 20~30s 内测出各管的荧光值, 作为各自的空白值。

### 计算:

$$\text{Vitamin B}_1 \text{ 含量(mg/100g)} = (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \times S \times N \times 100 / \{ (A_{\text{标准}} - A_{\text{标准空白}}) \times m \times 1000 \}$$

式中:  $A_{\text{测定}}$  = 测定管的荧光值

$A_{\text{空白}}$  = 空白管的荧光值

$S$  = 标准管中 Vitamin B<sub>1</sub> 含量 ( $\mu\text{g}$ )

$N$  = 稀释倍数

$A_{\text{标准}}$  = 标准管的荧光值

$A_{\text{标准空白}}$  = 标准空白管的荧光值

$m$  = 样品的质量(g)

### 注意事项:

- 1、在上述操作中, 要严格避免 Vitamin B<sub>1</sub> 受到阳光直射。
- 2、待测样品如不能及时测定, 应置于 2~8℃ 保存, 3 天内稳定。
- 3、如果样品浓度过高, 应用蒸馏水稀释后重测, 结果乘以稀释倍数。

**有效期:** 6 个月有效; 4℃ 运输, 4℃ 保存。