

# 维生素 B1 检测试剂盒(荧光光度法)说明书

本产品仅供体外研究使用，不得用于临床诊断

## 产品简介：

维生素 B1(VitaminB1)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。

维生素 B1 检测试剂盒(荧光光度法)是利用 VitaminB1 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 B1 的含量，如果样品中存在干扰物质，可用沸石吸附 VitaminB1，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。

## 产品组成：

名称	规格	保存条件
维生素 B1 检测试剂盒(荧光光度法)	50T	4℃避光
试剂(A):VitaminB1 标准(100 μg/ml)	1ml	RT
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):VitaminB1 氧化液	120ml	RT
试剂(G):VitaminB1 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
试剂(F):VitaminB1 氧化液	3×30ml	RT
使用说明书	1 份	
有效期	6 个月	

## 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 VitaminB1 标准(100 μg/ml), 按 VitaminB2 标准(100 μg/ml): 蒸馏水=1: 99 稀释成 VitaminB1 标准(1 μg/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、VitaminB1 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
VitaminB1 标准(1 μg/ml)	—	—	2.5	2.5
样品净化液	2.5	2.5	—	—
VitaminB1 氧化液	1.5	0.9	1.5	0.9
VitaminB1 检测液	—	0.6	—	—
	0.3	0.3	0.3	
振摇 15s				
正丁醇	5	5	5	85
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、VitaminB1 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:**

$$\text{VitaminB1 含量(mg/100g)} = (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \times S \times N \times 100 / \{ (A_{\text{标准}} - A_{\text{标准空白}}) \times m \times 1000 \}$$

式中: A 测定=测定管的荧光值 A 空白=空白管的荧光值 S=标准管中 VitaminB1 含量(μg) N=稀释倍数

A 标准=标准管的荧光值

A 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 VitaminB1 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。