

维生素B6检测试剂盒(微量法)

产品货号: BA1389

产品规格: 100管/48样

产品简介:

维生素B6(Vitamin B6)又称吡哆素,其包括吡哆醇、吡哆醛及吡哆胺,在体内以磷酸酯的形式存在,是一种水溶性维生素,肉类、全谷类、蔬菜和坚果类中含量较高。在机体中参与多种蛋白质和氨基酸的代谢,对生物体具有极其重要的作用。

VB6与4-氨基安替比林在强氧化剂作用下生成稳定的黄色化合物,在400nm有特征吸收峰。

技术指标:

最低检出限: 0.0179mg/mL 线性范围: 0.03125-1mg/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。

产品组成:

试剂名称	规格	保存条件	
提取液	液体35mL×1瓶	4℃	
试剂一	液体50mL×1瓶	4℃	
试剂二	液体6mL×1瓶	4℃	
试剂三	液体10mL×1瓶	4℃	
试剂四	粉剂×1瓶	4℃	
标准品	粉剂×1支	4°C	

溶液的配制:

- 1. 提取液:内含不溶物,使用前摇匀;
- 2. 试剂四:临用前加入10mL蒸馏水混匀,4℃保存一周,如果一次性用不完,可分装于-20℃保存待用;
- 3. 标准品: 10mg维生素B6,临用前加入1mL试剂一,配成10mg/mL的标准液。

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(仅供参考):

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)

组织:将样本磨碎,按照质量(g):提取液体积(mL)为1: $5\sim10$ 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:按照细胞数量(10^4 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°C,16000rpm离心10min,取上清测定。

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400nm,蒸馏水调零。
- 2. 将10mg/mL标准液用试剂一稀释为1、0.5、0.25、0.125、0.0625、0.03125、0.015625mg/mL的标准溶液备用。
- 3. 操作表: 在1.5mL离心管或96孔板中依次加入下列试剂

	对照管	测定管	标准管	空白管
10/ 1. (7)			初元日	上 日 日
样本(μL)	40	40	-	-
试剂一(μL)	-	-	-	40
标准溶液(μL)	-	-	40	-
试剂二(μL)	40	40	40	40
试剂三 (μL)	60	60	60	60
试剂四(μL)	-	60	60	60
蒸馏水(μL)	60	-	-	-

充分混匀,25℃反应20min,测定400nm处吸光值,记为A测定管、A对照管、A标准管、A空白管, Δ A=A测定管-A对照管, Δ A=A标准管-A空白管。(空白管只要做1-2管)

三、维生素B6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 带入方程得到x(mg/mL)。

- 2. 维生素B6含量的计算:
 - (1) 按蛋白浓度计算: VB6 (mg/mg prot) =x×V提取÷ (V提取×Cpr) =x÷Cpr
 - (2) 按样本质量计算: VB6 (mg/g质量) =x×V提取÷W=x÷W
 - (3) 按照细胞数量计算: $VB6 (mg/10^4 cell) = x \times V$ 提取÷细胞数量 (万个) = x÷细胞数量 (万个)
 - (4) 按液体体积计算: VB6 (mg/mL) =x×V样÷V样=x

V提取: 样本提取体积,1mL; V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。

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,若显色完成后有沉淀产生,将样本稀释后再测定,在计算公式中乘以稀释倍数。
- 3. 显色完成后立即进行测定,尽量保证反应时间一致。