

## 维生素 B2 检测试剂盒（荧光光度法）

产品货号：BA1717

产品规格：50T

### 产品简介：

维生素 B2 (Vitamin B2) 又称核黄素，是一种异咯嗪衍生物，耐热、微溶于水，中性水溶液及乙醇溶液呈黄色，具有很强的荧光，在 pH6~7 的溶液中荧光最强，在 pH=11 时荧光消失。核黄素可被还原性物质还原为无色的二氢化物，同时失去荧光，二氢化物在空气中易重新氧化，恢复其荧光。

源叶维生素 B2 检测试剂盒(荧光光度法)是利用 Vitamin B2 水溶液在激发波长 440~500nm(多为 460nm)，发射波长范围约为 510~550nm(多为 520nm)，当加入有还原性的亚硫酸盐时，核黄素被还原为无荧光的物质，根据稀核黄素溶液荧光强度的变化即可定量检测 Vitamin B2 的含量。本试剂盒仅用于科研领域，不宜用于临床诊断或其他用途。

### 产品组成：

| 产品名称                                 | 50T              | 保存条件  |
|--------------------------------------|------------------|-------|
| 试剂(A): Vitamin B2 标准(100 $\mu$ g/ml) | 2ml              | 4℃，避光 |
| 试剂(B): 组织匀浆液(10 $\times$ )           | 250ml            | 室温    |
| 试剂(C): 亚硫酸盐                          | 4 $\times$ 100mg | 室温    |

### 自备材料：

1. 待测样品如青菜、水果、牛奶等
2. 蒸馏水
3. 匀浆器
4. 稀盐酸或稀氢氧化钠
5. 离心管或试管
6. 荧光光度计

### 操作步骤 (仅供参考)：

1. 稀释组织匀浆液：取适量的组织匀浆液(10 $\times$ )，按组织匀浆液(10 $\times$ ): 蒸馏水=1: 9 的比例稀释，获得 1 $\times$ 组织匀浆液，待用。
2. 样品准备：
  - A) 固体样品：取待测材料如青菜、水果、松针等，清洗擦干，准确称量 5g 置于研磨器内研磨，加入少量 1 $\times$ 组织匀浆液，研磨碎，留取上清，再次用 1 $\times$ 组织匀浆液研磨，最后一并倒入 50ml 离心管，补充 1 $\times$ 组织匀浆液至 50ml，用氢氧化钠或盐酸调节 pH 值至 4.5(如无条件可用 pH 试纸粗略测定)，充分混匀后 4000g 离心 5min 或者过滤，上清或滤液定容至 50ml，滤液 4℃ 保存备用。
  - B) 液体样品：牛奶、饮料等液体样品，取 10ml 牛奶于 100ml 烧杯中，加入 0.1mol/L 的稀盐酸 50ml，放入灭菌锅中处理 30min，冷却后用稀氢氧化钠调 pH 至 6，再用稀盐酸调 pH 至 4.5，沉淀杂质，过滤后将滤液转移至 100ml 容量瓶中定容，滤液 4℃ 保存备用。
3. 稀释标准品：取适量的 Vitamin B2 标准(100 $\mu$ g/ml)，按 Vitamin B2 标准(100 $\mu$ g/ml): 1 $\times$ 组织匀浆液=1: 9 稀释成 Vitamin B2 标准(10 $\mu$ g/ml)，4℃ 保存。注意：Vitamin B2 标准(100 $\mu$ g/ml)需要充分溶解混匀，否则会导



致标准值不准确。

4. 制备亚硫酸盐工作液：取一支亚硫酸盐 100mg 粉末，充分溶解于 2ml 蒸馏水，即配制成 50mg/ml 的亚硫酸盐工作液，即配即用。
5. Vitamin B2 检测：选用恰当的滤色片，测定的激发波长为 460nm，发射波长为 520nm。提前预热仪器 30min，蒸馏水调零，以下表 6 号管的 Vitamin B2 标准(2.5μg/ml)作为参比溶液调荧光光度计的荧光强度读数满刻度(100%)，分别测定其他标准溶液和待测样品的相对荧光强度，如果荧光强度大于 100%，需要稀释后再行测定。分别测定加入亚硫酸盐工作液前后的荧光值，记为  $F_0$  和  $F_T$ 。加入亚硫酸盐后，应充分混匀，及时检测。

**Vitamin B2 检测标准曲线绘制及待测样品操作表**

| 加入物                    | 1     | 2    | 3    | 4    | 5    | 6    | 样品   |
|------------------------|-------|------|------|------|------|------|------|
| Vitamin B2 标准(10μg/ml) | 0.125 | 0.25 | 0.5  | 0.75 | 1.0  | 1.25 | -    |
| 蒸馏水                    | 4.875 | 4.75 | 4.5  | 4.25 | 4.0  | 3.75 | -    |
| 待测上清或滤液(ml)            | -     | -    | -    | -    | -    | -    | 5.0  |
| 浓度(μg/ml)              | 0.25  | 0.5  | 1.0  | 1.5  | 2.0  | 2.5  | -    |
| 含量(μg)                 | 1.25  | 2.5  | 5    | 7.5  | 10   | 12.5 | -    |
| 还原前荧光值 $F_0$           |       |      |      |      |      |      |      |
| 亚硫酸盐工作液                | 0.11  | 0.11 | 0.11 | 0.11 | 0.11 | 0.11 | 0.11 |
| 还原后荧光值 $F_T$           |       |      |      |      |      |      |      |

#### 计算：

溶液的荧光强度校准值： $F = F_0 - F_T$

式中： $F$ =校正后的荧光强度

$F_0$ =还原前荧光强度

$F_T$ =还原后荧光强度

以各管 Vitamin B2 标准的浓度(μg/ml)或含量(μg)为横坐标，以对应的校正后的荧光强度( $F$ )为纵坐标，做出 Vitamin B2 标准曲线。

根据 Vitamin B2 标准曲线及样品管的校正后的荧光强度 ( $F$ )即可计算出待测样品中 Vitamin B2 的实际浓度和含量。

100ml 液体样品中 VitaminB2 含量(μg/100ml)=  $C \times V_2 \times 100 / V_1$

100g 固体样品中 Vitamin B2 含量(μg/100g)=  $C \times V_3 \times 100 / m$

式中： $C$ =待测样品中 Vitamin B2 的浓度(μg/ml)

$V_1$ =检测体系中加入的滤液体积(ml)=5

$V_2$ =液体样本滤液的总体积(ml)=100

$V_3$ =固体样品的上清液总体积(ml)=50

$m$ =固体样品的质量(g)=5

#### 注意事项：

1. 在上述操作中，要严格避免 VitaminB2 受到阳光直射，否则易分解。
2. 待测样品如不能及时测定，应置于 2~8℃ 避光保存，3 天内稳定。
3. 含核黄素的标准品或样品一旦加入亚硫酸盐后会因产生二氢化物失去荧光，但二氢化物在空气中又易重新氧化，恢复荧光，因此应在 10min 内检测完毕，而且越快越好。
4. 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。

