

维生素 B6（VB6）检测试剂盒说明书

微量法

货号：BC2115

规格：100T/48S

产品组成：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体 35 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	液体 50 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	液体 6 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂三	液体 10 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂四	粉剂×1 瓶	2-8℃保存
标准品	粉剂×1 支	2-8℃保存

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 10 mL 蒸馏水混匀，2-8℃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 1 mL 试剂一，配成 10 mg/mL 的标准液。

产品说明：

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：0.0179 mg/mL

线性范围：0.03125-1 mg/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。

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：**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 1：5~10 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

- 分光光度计/酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 400nm，蒸馏水调零。
- 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。
- 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
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°C 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， $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ ， $\Delta A = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$ 。（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：

- 按蛋白浓度计算：VB6 含量（mg/mg prot）= $x \times V_{\text{提取}} \div (V_{\text{提取}} \times C_{\text{pr}}) = x \div C_{\text{pr}}$
- 按样本质量计算：VB6 含量（mg/g 质量）= $x \times V_{\text{提取}} \div W = x \div W$
- 按照细胞数量计算：VB6 含量（mg/ 10^4 cell）= $x \times V_{\text{提取}} \div \text{细胞数量（万个）} = x \div \text{细胞数量（万个）}$
- 按液体体积计算：VB6 含量（mg/mL）= $x \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样}} = x$

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：

- 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。
- 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。
- 显色完成后立即进行测定，尽量保证反应时间一致。

实验实例：

- 称取 0.1g 小鼠肌肉组织，加入 0.6mL 提取液，60°C 浸提 30min，加蒸馏水 0.4mL，混匀后于 25°C，16000rpm 离心 10min，取上清，之后按照测定步骤操作，使用 96 孔板测得计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}} = 0.129 - 0.087 = 0.042$ ，



标准曲线 $y=0.834x-0.0104$ ，计算 $x=0.0628$ ，按样本质量计算 VB6 含量得：

$\text{VB6 (mg/g 质量)} = x \times V \text{ 提取} \div W = 0.0628 \times 1 \div 0.1 = 0.628 \text{ mg/g 质量}$ 。

- 2、称取 0.1g 花生，加入 0.6mL 提取液，60°C 浸提 30min，加蒸馏水 0.4mL，混匀后于 25°C，16000rpm 离心 10min，取上清，之后按照测定步骤操作，使用 96 孔板测得计算 $\Delta A = A \text{ 测定管} - A \text{ 对照管} = 0.256 - 0.159 = 0.097$ ，标准曲线 $y=0.834x-0.0104$ ，计算 $x=0.129$ ，按样本质量计算 VB6 含量得：

$\text{VB6 (mg/g 质量)} = x \times V \text{ 提取} \div W = 0.129 \times 1 \div 0.1 = 1.29 \text{ mg/g 质量}$ 。

相关发表文献：

[1] Wang S, Zhang X, Zhang Z, Chen Y, Tian Q, Zeng D, Xu M, Wang Y, Dong S, Ma Z, Wang Y, Zheng X, Ye W. Fusarium-produced vitamin B6 promotes the evasion of soybean resistance by Phytophthora sojae. J Integr Plant Biol. 2023 Sep;65(9):2204-2217. doi: 10.1111/jipb.13505. Epub 2023 Jun 21. PMID: 37171031.

相关系列产品：

BC4190/BC4195 维生素 B1 (VB1) 含量检测试剂盒

BC1420/BC1425 维生素 E (VE) 含量检测试剂盒

