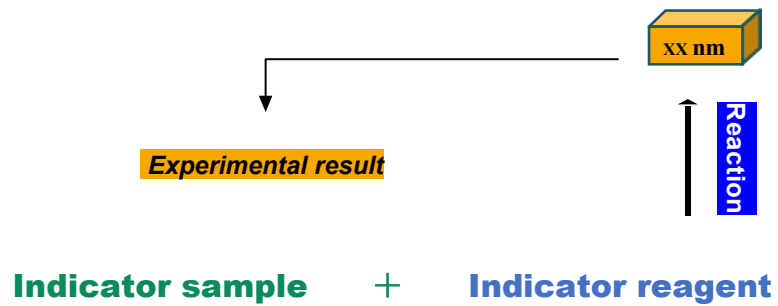


上海茁彩生物科技有限公司
Shanghai zcibio technology Co.,Ltd.



生化检测原理示意图

甜菜碱 (Betaine) 含量试剂盒说明书

可见分光光度法

注意：正式测定之前选择2-3个预期差异大的样本做预测定。

测定意义

甜菜碱是一种广泛分布于动植物及微生物体内的季铵型水溶性生物碱，是生物体内胆碱的氧化产物，可以增强免疫力、降血脂、抗氧化、抗肿瘤，并可作为甲基供体，参与促进动物蛋白质和脂肪代谢、增进食欲、缓和应激、调节渗透压、稳定维生素等多种生物作用，在化工、医药、食品添加剂等领域有较广泛的应用。

测定原理

甜菜碱在强酸条件下和雷氏盐发生反应产生沉淀，沉淀用丙酮溶解形成红色溶液，在 525nm处有特征吸收峰，测定 525nm 处的吸光值，可计算得样品的甜菜碱含量。

自备实验用品及仪器

天平、离心机、可见分光光度计、水浴锅、1mL 玻璃比色皿、 甲醇、乙醚、盐酸和蒸馏水。

试剂组成和配制

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	80%甲醇		自备，取40mL甲醇，加10mL蒸馏水
试剂一	粉剂0.4g×5瓶	4℃保存	临用前根据用量配制，每瓶加15mL蒸馏水溶解，加78 μL浓盐酸调pH为1，搅拌45min，过滤后用水定容20ml。
试剂二	乙醚		自备。
试剂三	液体100ml×1 瓶	4℃保存	易挥发，根据用量自备，丙酮：蒸馏水=7:3
试剂四	粉剂 ×1 瓶	常温	
标准品	粉剂 ×1 瓶	4℃保存	临用前加入3ml蒸馏水，即得10mg/ml甜菜碱标准液。

甜菜碱提取

取烘干后过40目筛的样品约0.2g，加1mL提取液，置于60℃提取30min，期间不断震荡。用镊子加入约3mg试剂四后充分震荡，10000rpm，25℃，离心 15min，取上清液，于70℃挥发甲醇（大约剩余0.2ml，务必将甲醇挥发干净），之后用水定容至1ml。

1. 可见分光光度计预热30min 以上，调节波长至525nm，试剂三调零。
2. 将10mg/mL甜菜碱标准液依次稀释为9、8、7、6、5、4、3、2 mg/mL的标准溶液备用。
3. 操作表：

试剂名称 (ml)	测定管	标准管	空白管
样本	0.1	-	-
标准品	-	0.1	-
蒸馏水	-	-	0.1
试剂一	1	1	1
充分混匀，4°C中反应 2h，8000rpm，25°C，离心 15min，弃上清			
试剂二	1	1	1
8000rpm，25°C，离心 10min，置于通风橱使试剂二自然挥发干净			
试剂三	1	1	1
震荡使沉淀充分溶解，测定A标准管、A测定管和A空白管，计算 $\Delta A_{标准} = A_{标准管} - A_{空白管}$ ， $\Delta A_{测定} = A_{测定管} - A_{空白管}$ 。			

甜菜碱含量计算公式

1、绘制标准曲线：

以 ΔA 标准为y轴，标准溶液浓度为x轴，绘制标准曲线，得到标准方程 $y=kx+b$ ，将 ΔA 测定带入方程，得到x (mg/mL)

2、甜菜碱含量的计算：

甜菜碱含量(mg/g) = $x * V_{提取} \div W$ 。

V提取:提取液体积，1ml；W:样本烘干质量，g。

注意事项

- 1、试剂一配制时pH严格控制为1，否则会导致反应不完全，配制后4°C只能稳定48小时，配制后尽快使用。
- 2、试剂二与试剂三对呼吸道有一定的刺激，请做好防护工作。
- 3、当 ΔA 大于0.4时，建议将样本稀释后测定。
- 4、本试剂盒检测范围在：2mg/mL-9mg/mL 之间。