

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

甜菜碱检测试剂盒说明书

微量法

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/酶标仪、微量石英比色皿/96孔板、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	自备		80%甲醇。取80mL 甲醇，加20mL 蒸馏水
标准品	粉剂 1mg×2 支	4℃保存	临用前加1mL 蒸馏水充分溶解
试剂一	粉剂 0.12g×2 瓶	4℃保存	临用前根据用量配制，每瓶加4mL 蒸馏水溶解，加78 μL 浓盐酸调 pH 为1。
试剂二	自备	-	99%乙醚，自备。取无水乙醚5.94mL ，加入蒸馏水0.06mL ，混匀
试剂三	70%丙酮	-	易挥发，根据用量自备，丙酮：蒸馏水=7:3

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。10000g，25℃，离心15min，取上清液。

测定操作表

1、分光光度计/酶标仪预热30min，调节波长至525nm。

2、操作表

	标准管	测定管
上清液 (μL)		50
标准品 (μL)	50	
试剂一 (μL)	70	70
充分混匀, 4°C中反应 2h, 8000rpm, 25°C, 离心 15min, 弃上清		
试剂二 (μL)	60	60
8000rpm, 25°C, 离心 10min, 置于通风橱使试剂二自然挥发干净		
试剂三 (μL)	200	200
震荡使沉淀充分溶解, 取200μL于微量石英比色皿/96孔板, 试剂三调零, 记录标准管和测定管525nm处吸光值A ₅₂₅ 。		

注意: 标准管只需测定一次。

甜菜碱含量计算公式

a. 用微量石英比色皿测定的计算公式如下

$$\begin{aligned} \text{甜菜碱含量 (mg/g)} &= A_{525} \text{测定管} \div A_{525} \text{标准管} \times C \text{标准品} \times V \text{标准} \div (V \text{样} \div V \text{样总} \times W) \\ &= A_{525} \text{测定管} \div A_{525} \text{标准管} \div W \end{aligned}$$

C 标准品: 标准品浓度, 1mg/mL; V 反总: 标准品体积, 0.05mL; V 样: 反应中样本体积, 0.05mL; V 样总: 加入提取液体积, 1mL; W: 样本质量, g

b. 用96孔板测定的计算公式如下

$$\begin{aligned} \text{甜菜碱含量 (mg/g)} &= A_{525} \text{测定管} \div A_{525} \text{标准管} \times C \text{标准品} \times V \text{标准} \div (V \text{样} \div V \text{样总} \times W) \\ &= A_{525} \text{测定管} \div A_{525} \text{标准管} \div W \end{aligned}$$

C 标准品: 标准品浓度, 1mg/mL; V 反总: 标准品体积, 0.05mL; V 样: 反应中样本体积, 0.05mL; V 样总: 加入提取液体积, 1mL; W: 样本质量, 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只能稳定几个小时, 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、最低检出限为1mg/g。