

甜菜碱含量检测试剂盒说明书

可见分光光度法

货号：AC10557

规格：50T/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，有疑问请及时联系本公司工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体 50 mL×1 瓶（自备）	4℃保存
试剂一	粉剂×5 瓶	4℃保存
试剂二	液体 100 mL×1 瓶（自备）	4℃保存
试剂三	液体 100 mL×1 瓶	4℃保存
试剂四	粉剂×1 瓶	常温保存
标准品	粉剂×1 瓶	4℃保存

溶液的配制：

- 1、提取液：自备 80%甲醇。取 40 mL 甲醇，加 10 mL 蒸馏水；
- 2、试剂一：临用前根据用量配制，每瓶加 15mL 蒸馏水，用浓盐酸（37%）调 pH 为 1，搅拌 45 min，过滤后用水定容至 20 mL；
- 3、试剂二：自备乙醚；
- 4、标准品：临用前加入 3 mL 蒸馏水溶解，即得 10 mg/mL 甜菜碱标准液。

产品说明：

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。

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，可得样本的甜菜碱含量。

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：

台式离心机、可见分光光度计、水浴锅、1mL玻璃比色皿、可调式移液枪、研钵/匀浆器、甲醇、乙醚、浓盐酸（37%）、蒸馏水、30-50目筛。

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）

取烘干后过 30-50 目筛的样本约 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。

二、测定步骤

- 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，弃上清。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 $\Delta A_{标准} = A_{标准管} - A_{空白管}$ ， $\Delta A_{测定} = A_{测定管} - A_{空白管}$ 。			

三、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 质量) = $x \times V_{提取} \div W$

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。

相关发表文献：

[1] Yanan Wang, Chengzhen Liang, Zhigang Meng, et al. Leveraging *Atriplex hortensis* choline monooxygenase to improve chilling tolerance in cotton. *Environmental and Experimental Botany*. June 2019; 162: 364-373. (IF3.712)