

Betaine Content Kit

甜菜碱含量试剂盒说明书

货号: BN72486 | 方法: 可见分光法 | 规格: 48 样

一、产品简介:

甜菜碱是一种广泛分布于动植物及微生物体内的生物碱。其在强酸条件下和雷氏盐发生反应产生红色沉淀, 沉淀用丙酮溶解形成粉红色溶液, 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。

二、测试盒组成和配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	粉剂 mg×2 瓶	4℃保存	临用前, 每瓶加 14mL 蒸馏水溶解(可低温超声 20min), 加 280μL 浓盐酸调 pH 为 1。最终为混悬液, 临用前摇匀吸取即可。
石油醚	自备	4℃保存	石油醚 (60-90℃)。
70%丙酮	自备	4℃保存	丙酮: 蒸馏水=7:3。
标准品	粉剂 mg×1 支	4℃保存	若重新做标曲, 则用到该试剂。

【注】: 试剂一配制时 pH 严格控制为 1, 否则会导致反应不完全, 配制后尽快使用。

三、所需的仪器和用品:

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿 (光径 1cm)、可调式移液器、天平、离心机、甲醇、石油醚、盐酸、丙酮和蒸馏水。

四、甜菜碱含量测定:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定, 了解本批样品和实验流程, 避免样本和试剂浪费!

1、样本制备:

- ① 组织样本: 取烘干后过 60 目筛的样品约 0.1g 或称取约 0.2g 鲜样, 加 1mL 的 80% 甲醇溶液, 置于 60℃提取 30min, 期间不断震荡。12000rpm, 25℃离心 15min, 取上清液待测。
- ② 细菌/细胞样本: 先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清; 取约 500 万细菌或细胞加 1mL 的 80%甲醇溶液, 置于 60℃提取 30min, 期间不断震荡。12000rpm, 25℃离心 15min, 取上清液待测。

【注】: 若增加样本量, 可按照细菌/细胞数量 (10^4): 提取液 (mL) 为 500~1000: 1 的比例进行提取。

- ③ 液体样本: 若是澄清液体样本则直接检测, 若是浑浊液体则需离心后取上清液测定。

2、上机检测:

- ① 可见分光光度计预热 30min, 调节波长至 525nm, 用 70%丙酮调零。
- ② 在 EP 管中按照下表依次加试剂:

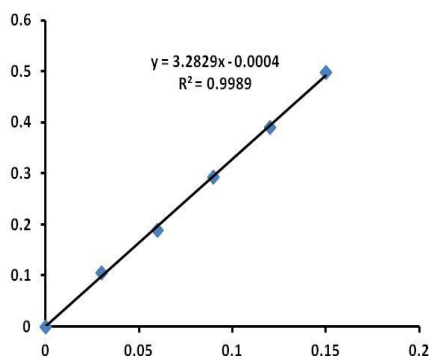
试剂 (μL)	测定管	空白管 (只做一次)
样本	150	
蒸馏水		150
试剂一	500	500
混匀, 4℃反应 2h, 12000rpm, 25℃离心 15min, 弃上清		

(上清液可用移液器移除, 务必完全移除)。		
99%石油醚	500	500
12000rpm, 25°C离心 10min, 弃上清, 可继续置于 60°C烘箱中 (约 30min), 至风干为止。		
70%丙酮	1000	1000
震荡使沉淀充分溶解, 取全部澄清液体至 1mL 玻璃比色皿 (光径 1cm) 中, 在 525nm 处读值, $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ 。		

注意: 本操作流程适用于绝大多数常规样本检测, 实验条件可根据实际样本状态适度微调; 针对特殊类型样本, 我司技术支持可提供专属优化建议。

五、结果计算:

1、标准曲线方程: $y = 3.2829x - 0.0004$: x 是标准品的质量 (mg); y 是 ΔA 。



标准曲线示意图

说明: 标准曲线由标准品测定获得, 具体制作方法详见随货说明书或咨询技术支持。

2、按照质量计算:

$$\text{甜菜碱含量 (mg/g 干重)} = [(\Delta A + 0.0004) \div 3.2829] \div (W \times V1 \div V) = 2.031 \times (\Delta A + 0.0004) \div W$$

3、按细胞数量计算:

$$\text{甜菜碱含量 (}\mu\text{g}/10^4 \text{ cell)} = [(\Delta A + 0.0004) \div 3.2829] \div (500 \times V1 \div V) \times 10^3 = 4.06 \times (\Delta A + 0.0004)$$

4、按液体体积计算:

$$\text{甜菜碱含量 (}\mu\text{g/mL)} = [(\Delta A + 0.0004) \div 3.2829] \div V1 \times 10^3 = 2030.7 \times (\Delta A + 0.0004)$$

V1---反应中样本体积, 0.15mL;

V---加入提取液体积, 1mL;

W---样本质量, g;

500---细胞数量, 万;