

Betaine Content Kit

甜菜碱含量试剂盒说明书

货号: G0122W | 方法: 微板法 | 规格: 96 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°C 保存	临用前，每瓶加 6mL 蒸馏水混匀(可低温超声 20min)，加 120μL 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°C 保存	石油醚 (60-90°C)。
70%丙酮	自备	4°C 保存	丙酮: 蒸馏水=7:3。
标准品	粉剂 mg×1 支	4°C 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:

酶标仪、96 孔板、天平、离心机、可调式移液器、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°C 提取 30min（期间不断震荡）。12000rpm，25°C 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°C 提取 30min，期间不断震荡。12000rpm，25°C 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

③ 液体样本：若是澄清液体则直接检测，若是浑浊液体则需离心后取上清液测定。

2、上机检测:

① 酶标仪预热 30min，调节波长至 525nm。

② 在 EP 管中按照下表依次加试剂:

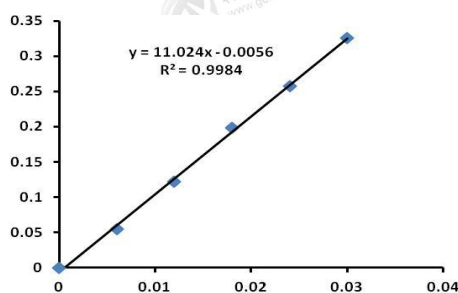
试剂 (μL)	测定管	空白管 (只做一次)
样本	30	
蒸馏水		30
试剂一	100	100

混匀，4°C反应 2h，12000rpm，25°C离心 15min，弃上清 (上清液可用移液器移除，务必完全移除)。		
石油醚	100	100
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	200	200
震荡使沉淀充分溶解，取 200μL 至 96 孔板中，于 525nm 处读值， $\Delta A = A$ 测定 - A 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： $y = 11.024x - 0.0056$ ；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：

$$\text{甜菜碱含量(mg/g 干重)} = [(\Delta A + 0.0056) \div 11.024] \div (W \times V_1 \div V) = 3.02 \times (\Delta A + 0.0056) \div W$$

3、按细胞数量计算：

$$\text{甜菜碱含量}(\mu\text{g}/10^4 \text{ cell}) = [(\Delta A + 0.0056) \div 11.024] \div (500 \times V_1 \div V) \times 10^3 = 6.05 \times (\Delta A + 0.0056)$$

4、按液体体积计算：

$$\text{甜菜碱含量}(\mu\text{g}/\text{mL}) = [(\Delta A + 0.0056) \div 11.024] \div V_1 \times 10^3 = 3023.3 \times (\Delta A + 0.0056)$$

V1---反应中样本体积，0.03mL；

V---加入提取液体积，1mL；

W---样本质量，g；

500---细胞数量，万；