CheKine™ 甜菜碱含量检测试剂盒（微量法）

货号: KTB2350　　规格: 48 T/48 S　96 T/96 S　　批号：见产品标签

	适用样本：动植物组织
	保质期：4℃，避光保存 6 个月

01 背景与原理

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。

本试剂盒检测原理是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 525 nm 处有特征吸收峰，测定 525 nm 处的吸光值，可得样本的甜菜碱含量。

02 包装清单

试剂盒组分	规格		储存要求
	48 T	96 T	
Extraction Buffer	15 mL	30 mL	4℃
Reagent Ⅰ	Powder×2 vials	Powder×3 vials	4℃，避光保存
Standard	Powder×1 vial	Powder×1 vial	4℃，避光保存

***请在实验前检查各组分的量。**

***各组分在规格基础上额外提供 10%的量用于进行标准曲线制作或预实验。**

03 自备仪器与试剂

自备资源类型	资源名称	备注
仪器	酶标仪	能测 525 nm 处的吸光度
耗材	96 孔酶标板	普通透明板
试剂	去离子水、乙醚、浓盐酸、丙酮	试剂配制、检测体系配制用
其他	匀浆器（组织样本）、40 目筛、恒温摇床、低温离心机、水浴锅、可调节式移液枪及枪头	检测量较大时合理使用多通道移液器有助于提高实验效率

04 注意事项

- **正式检测前，建议选择 2-3 个预期差异较大的样本进行预实验。**
- 本试剂盒兼容分光光度计检测，请按照分光光度计检测要求按比例调节检测试剂配制量。如有疑问，可咨询本司技术人员（400-6800-830）。
- 建议实验者自行建立标准曲线以提高结果准确度。如未自行建立标准曲线，可参考结果展示部分的典型标准曲线公式进行结果计算。
- 生化检测试剂普遍具有刺激性、生物毒性等，为了您的安全和健康，**请在实验全程做好生物安全防护**，穿戴实验服、口罩、手套、头套等安全护具，在通风橱、生物安全柜中进行实验。
- 本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。

05 实验流程

05-1 试剂准备

05-1-1 试剂准备

试剂名称	试剂准备	注意事项
Extraction Buffer	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存
Working Reagent Ⅰ	临用前配制；每瓶加 15 mL 去离子水，用浓盐酸调 pH 为 1，搅拌 30 min 溶解，过滤后用去离子水定容至 20 mL	现配现用
Reagent Ⅱ	99%乙醚，取无水乙醚 59.4 mL，加入去离子水 0.6 mL，混匀	室温保存（自备）
Reagent Ⅲ	70%丙酮，取丙酮 42 mL，加入去离子水 18 mL，混匀	室温保存（自备）
10 mg/mL Standard	临用前配制；加入 1 mL 去离子水将标准品充分溶解得 10 mg/mL 的甜菜碱溶液	4℃避光保存 1 个月

05-1-2 标准品配制

使用 10 mg/mL 的甜菜碱标准品，按照下表所示，进一步稀释成标准品。每次实验都要做一次标准品检测，制作标曲；稀释后的标准品溶液不稳定，必须在 4 小时内使用。

序号	Standard 体积（μL）	去离子水体积（μL）	浓度（mg/mL）
1	45 μL 10 mg/mL Standard	455	0.9
2	40 μL 10 mg/mL Standard	460	0.8
3	35 μL 10 mg/mL Standard	465	0.7
4	30 μL 10 mg/mL Standard	470	0.6
5	25 μL 10 mg/mL Standard	475	0.5
6	20 μL 10 mg/mL Standard	480	0.4
7	15 μL 10 mg/mL Standard	485	0.3
8	10 μL 10 mg/mL Standard	490	0.2
空白	0	500	0

05-2 样本制备

注意：建议使用新鲜样本。如果不立即使用，可将样品在-80℃下保存一个月。测定时，应控制解冻的温度和时间。室温环境下解冻时，需在 4 h 内完成样品解冻。

- **动植物组织**：取烘干后过 40 目筛的样品约 0.02 g，加 0.8 mL 去离子水，置于 60℃提取 30 min，期间不断震荡。再加入 200 μL Extraction Buffer，混匀后 10000 g，25℃，离心 10 min，取上清液待测。

05-3 实验步骤

1. **酶标仪准备**：预热 30 min 以上，调节波长到 525 nm。
2. **检测体系配制**：空白管和标准管只需做 1-2 次。在 1.5 mL 离心管中按照如下方式操作：

试剂	空白管（μL）	标准管（μL）	测定管（μL）
样本	0	0	300
Standard	0	300	0
去离子水	300	0	0
Working Reagent Ⅰ	300	300	300
混匀，4℃反应 2 h，14000 g，25℃，离心 10 min，弃上清			
Reagent Ⅱ	500	500	500
混匀，14000 g，25℃，离心 10 min，弃上清。置于通风橱使残余乙醚自然挥发干净			
Reagent Ⅲ	300	300	300

3. **吸光度检测：**震荡使沉淀充分溶解，取 200 μL 于 96 孔板，测定 525 nm 处吸光度，分别记为 $A_{测定}$、$A_{空白}$、$A_{标准}$。

06 结果计算

06-1 自动计算

为帮助您更轻松、准确地完成相关计算，我们特在官网提供了“在线计算器小工具”。您无需手动计算，只需在网页上输入数值，即可快速获得可靠结果。访问方式：请扫描右侧**二维码**或访问官网[https://www.abbkine.cn] > 进入“**技术中心**”> 查找“**在线计算器**”工具。

06-2 手动计算

以下为您提供的推导过程计算公式和简洁计算公式，两者完全相等。

1. 数据处理

计算$\Delta A_{测定}=A_{测定}-A_{空白}$、$\Delta A_{标准}=A_{标准}-A_{空白}$。

2. 标准曲线绘制

以标准品浓度为 y 轴，$\Delta A_{标准}$为 x 轴，绘制标准曲线。将$\Delta A_{测定}$代入方程得到 y 值（mg/mL）。

3. 样本甜菜碱含量计算

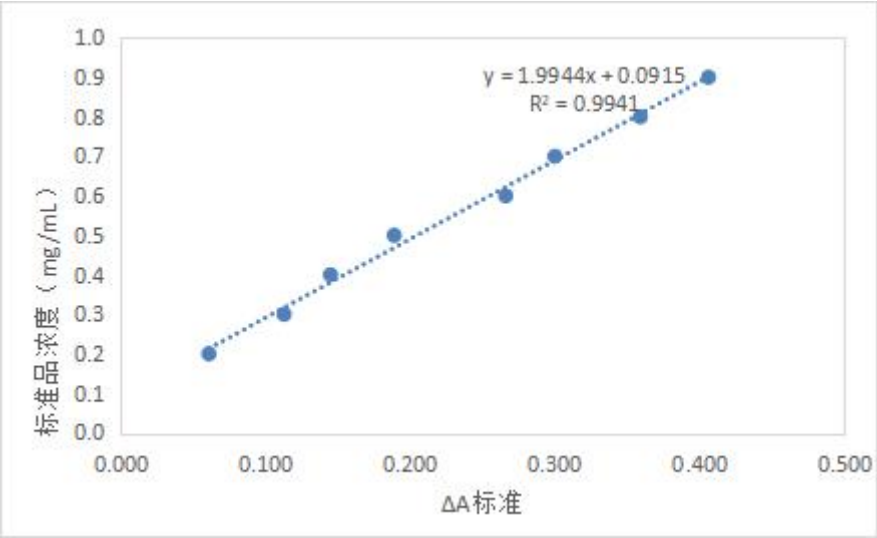
- 按样本质量计算：

甜菜碱(mg/g)=$y\times V_{标准}\div(V_{样}\div V_{样总}\times W)\times n$**=$y\div W\times n$**

$V_{标准}$：标准品体积，0.3 mL；$V_{样}$：反应中样本体积，0.3 mL；$V_{样总}$：加入 Extraction Buffer 体积，1 mL；W：样本质量，g；n：样本稀释倍数。

07 结果展示

典型标准曲线：y=1.9944x+0.0915，R^2=0.9941



示例-1：取 0.02g 烘干菠菜，按照测定步骤操作，用 96 孔板进行检测。测得$\Delta A_{测定}=A_{测定}-A_{空白}$=0.221-0.045=0.176，代入标准曲线，计算 y=0.443。按样本体积计算得：甜菜碱(mg/g)=y÷W×n=22.15 mg/g。

08 FAQ

- **检测得到的样本$\Delta A_{测定}$过高或者过低怎么办?**

如果$\Delta A_{测定}$小于 0.05 可适当加大样本量。如果$\Delta A_{测定}$大于 0.9 mg/mL 的$\Delta A_{标准}$，样本可用去离子水进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数，或减少提取用样本量。

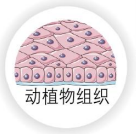
09 相关产品

货号	试剂盒名称
KTB1030	CheKine™ 超氧化物歧化酶（SOD）活性检测试剂盒（微量法）
KTB1040	CheKine™ 过氧化氢酶（CAT）活性检测试剂盒（微量法）
KTB1110	CheKine™ 乳酸脱氢酶（LDH）活性检测试剂盒（微量法）

CheKine™ 甜菜碱含量检测流程示意图

（Abbkine 货号 ： KTB2350）

样本处理



取烘干后过40目筛的样品约0.02 g，加0.8 mL去离子水，置于60℃提取30 min，期间不断震荡。
再加入200 μL Extraction Buffer混匀



10000 g ，25℃离心10 min，取上清



体系配置

标准品配制



去离子水 300 μL
Working Reagent Ⅰ 300 μL



样本 300 μL
Working Reagent Ⅰ 300 μL



Standard 300 μL
Working Reagent Ⅰ 300 μL

混匀，4℃反应2 h，14000 g，25℃，离心10 min，弃上清

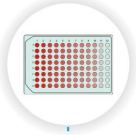
Reagent Ⅱ 500 μL　Reagent Ⅱ 500 μL　Reagent Ⅱ 500 μL

混匀，14000 g，25℃，离心10 min，弃上清。置于通风橱使残余乙醚自然挥发干净

Reagent Ⅲ 300 μL　Reagent Ⅲ 300 μL　Reagent Ⅲ 300 μL

震荡使沉淀充分溶解，取200 μL于酶标板

数据检测



测定525 nm吸光度
结果计算

V1.0