

γ-氨基丁酸 (γ-aminobutyric acid, GABA) 试剂盒说明书

微量法 100 管/96 样

注 意：正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

测定意义：

γ-氨基丁酸 (GABA) 是一种天然活性成分，广泛分布于动植物体内。γ-氨基丁酸是中枢神经系统中有效的抑制性神经递质，具有降血压、增进脑活力、营养神经细胞、保持神经安定、促进生长激素分泌和保肝利肾等作用，目前在医药和保健食品中已有广泛的应用。

测定原理：

苯酚和次氯酸钠与 GABA 反应，产生蓝绿色产物，在 640nm 有最大吸光值。

需自备的仪器和用品：

酶标仪、水浴锅、可调式移液器、96 孔板、研钵、冰和蒸馏水。

试剂的组成和配制：

- 提取液：液体 100mL×1 瓶，4°C 保存；
- 试剂一：液体 6mL×1 瓶，4°C 保存；
- 试剂二：液体 5mL×1 瓶，4°C 避光保存；
- 试剂三：液体 8mL×1 瓶，4°C 保存；
- 试剂四：液体 25mL×1 瓶，4°C 保存。

样品测定的准备：

称取约 0.1g 样本，加入 1mL 提取液，充分匀浆，转移至 EP 管，95°C 水浴 2h（盖紧，以防止水分散失）。冷却后 8000g，25°C 离心 10min，取上清待测。

测定步骤：

EP 管中加入如下试剂

试剂名称 (μL)	测定管	空白管
上清	30	
提取液		30
试剂一	50	50
试剂二	40	40

混匀，室温静置 5min。

试剂三	60	60
-----	----	----

混匀，95°C 水浴 10min，冰浴冷却。

试剂四	200	200
-----	-----	-----

混匀，取 200 μL 于 96 孔板，测定 640nm 下吸光值 A 测定与 A 空白， $\Delta A = A_{测定} - A_{空白}$ ，空白管只需测一管。

GABA 含量计算:

标准条件下测定回归方程为 $y = 0.0265x - 0.0163$, $R^2 = 0.9953$; x 为标准品浓度 ($\mu\text{ mol/mL}$), y 为吸光值。

1、按照蛋白浓度计算

$$\text{GABA}(\mu\text{ mol/mg prot}) = (\Delta A + 0.0163) \div 0.0265 \div \text{Cpr} = 37.74 \times (\Delta A + 0.0163) \div \text{Cpr}$$

2、按样本鲜重计算

$$\text{GABA 含量}(\mu\text{mol/g 鲜重}) = (\Delta A + 0.0163) \div 0.0265 \div W = 37.74 \times (\Delta A + 0.0163) \div W$$

Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; W: 样本质量, g。

