

甜菜碱（Betaine）含量试剂盒说明书

微量法 100T/96S

注 意：正式测定之前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定。

测定意义：

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。

测定原理：

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，可计算得样品的甜菜碱含量。

自备实验用品及仪器：

天平、离心机、酶标仪、96 孔板、乙醚、盐酸、丙酮和蒸馏水。

试剂组成和配制：

提取液：液体 30mL×1 瓶，4℃保存；

试剂一：粉剂×3 瓶，4℃保存；临用前根据用量配制，每瓶加 20mL 蒸馏水溶解，加 390μL 浓盐酸调 pH 为 1。

试剂二：99%乙醚，自备。取无水乙醚 59.4mL，加入蒸馏水 0.6mL，混匀。

试剂三：70%丙酮，自备。（易挥发，根据用量自备，丙酮：蒸馏水=7:3）。

甜菜碱提取：

取烘干后过 40 目筛的样品约 0.02g，加 0.8mL 水，置于 60℃提取 30min，期间不断震荡。再加入 200μL 提取液，混匀后 10000g，25℃，离心 10min，取上清液。

测定操作表：

- 1、酶标仪预热 30min，调节波长至 525nm。
- 2、操作表

	空白管	测定管
上清液（μL）		300
蒸馏水（μL）	300	
试剂一（μL）	500	500
充分混匀，4℃中反应 2h，12000rpm，25℃，离心 10min，弃上清		
试剂二（μL）	500	500
混匀，12000rpm，25℃，离心 10min，弃上清。置于通风橱使残余乙醚自然挥发干净		
试剂三（μL）	300	300
震荡使沉淀充分溶解，取 200μL 于 96 孔板，记录标准管和测定管 525nm 处吸光值 A 测定与 A 空白。		

$\Delta A = A$ 测定管-A 空白管。

甜菜碱含量计算公式：

标准条件下测定的回归方程为 $y = 0.502x + 0.0057$ ， $R^2 = 0.9993$ ；x 为甜菜碱浓度（mg/mL），y 为吸光值。

$$\begin{aligned} \text{甜菜碱含量 (mg/g 干重)} &= (\Delta A - 0.0057) \div 0.502 \times V_{\text{标准}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \\ &= 1.99 \times (\Delta A - 0.0057) \div W \end{aligned}$$

V 标准：标准品体积，0.3mL；V 样：反应中样本体积，0.3mL；V 样总：加入提取液体积，1mL；W：样本质量，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 只能稳定几个小时，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。