

食品中氨基酸态氮含量测定试剂盒说明书

(货号:G0447W 微板法 96 样)

一、产品简介:

食品中氨基酸态氮是指以游离氨基酸形式存在的氮元素,是评价食品(如酱油、醋、发酵制品等)中氨基酸含量和营养价值的重要指标。氨基酸态氮的含量高低直接反映了食品的鲜味和品质。食品中的氨基酸态氮主要来源于蛋白质的水解产物,即游离氨基酸。在发酵食品中,微生物发酵过程中蛋白质被分解为氨基酸,形成氨基酸态氮。

本试剂盒采用甲醛-乙酰丙酮显色法测定食品中氨基酸态氮含量,在弱酸条件下,氨基酸态氮与乙酰丙酮和甲醛反应生成黄色的氨基酸衍生物。在波长 400nm 处测定吸光度,通过计算得到氨基酸态氮的含量。

二、所需的仪器和用品:

酶标仪、96 孔板、可调式移液器、天平、烘箱、离心机、蒸馏水。

三、试剂盒组分与配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 120mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	液体 20mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二	二 A: 液体 4mL×1 瓶 二 B: 液体 2.5mL×1 支 二 C: 空瓶: 5 个	4℃保存	临用前,向一新的二 C 空瓶中,依次加入 0.75mL 试剂二 A 和 0.39mL 试剂二 B,混匀,最后再加 3.86mL 蒸馏水至该瓶中(总体积是 5mL),作为试剂二备用。
标准品	液体 1 mL×1 支	4℃保存	若重新做标曲,则用到该试剂。

四、食品中氨基酸态氮含量的测定:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定,了解本批样品情况,熟悉实验流程,避免实验样本和试剂浪费!

1、样本制备:

① 组织样本:

称取约 0.1g 组织样本(若水分充足,可增加样本取样质量),加入 1mL 的提取液,冰浴匀浆。25℃×12000rpm,离心 10min,取上清,待测。

【注】:若样本量较少,可同比例缩减样本量,如取 0.05g 样本,加入 0.5mL 提取液。25℃×12000rpm,离心 10min,取上清,待测。

② 液体样品:澄清的液体样本可直接检测;若浑浊可离心后取上清液检测。

2、上机检测:

① 酶标仪预热 30min,调节波长至 400nm。

② 对于氨基酸态氮含量较高的样本,一般需用蒸馏水稀释后再检测如稀释 20 倍,也可先选取 2 个样本做预测定,找出适合本次检测样本的稀释倍数 D。

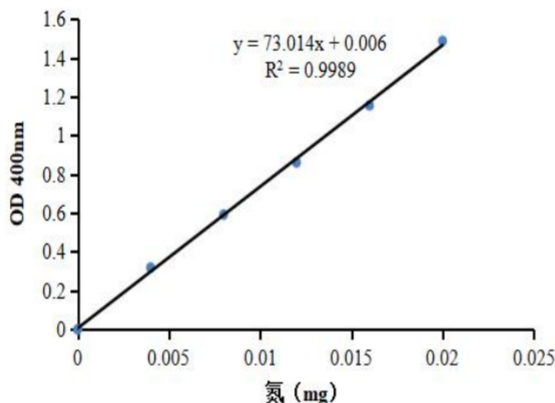
③ 在 EP 管中依次加入:

试剂名称 (μL)	测定管	空白管 (仅做一次)
样本	100	
蒸馏水		100
试剂一	200	200
试剂二	200	200
混匀, 于 100℃下反应 15min, 取出后流水冷却至室温, 取 200μL 澄清的反应液至 96 孔板中, 于 400nm 处读值, $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}$ 。		

- 【注】1. 若吸光值大于 1, 样品适当稀释再测定, 计算公式里乘以稀释倍数 D。
2. 若 $\Delta A < 0.01$, 可增加样本取样质量 W, 或加大样本上样量 V1 (如增至 200μL, 则试剂一相应减少, 保持总体积不变), 则改变后 W 和 V1 需代入计算公式重新计算。
3. 若待检测样本有强背景色 (如黄色或棕色), 需做一个样本自身对照: 即试剂二用 200μL 蒸馏水替换, 其他步骤同测定管, $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。

五、结果计算:

1、标准曲线: $y = 73.014x + 0.006$, x 是标准品质量(mg), y 是 ΔA 。



2、氨基酸态氮含量(mg/g 重量) = $(\Delta A - 0.006) \div 73.014 \div (V1 \div V \times W) \times D$
 $= 0.137 \times (\Delta A - 0.006) \div W \times D$

3、氨基酸态氮含量(mg/mL) = $(\Delta A - 0.006) \div 73.014 \div V1 \times D$
 $= 0.137 \times (\Delta A - 0.006) \times D$

V---加入提取液体积;

V1---反应中样品体积, 0.1mL;

D---稀释倍数, 未稀释即为 1;

W---样品质量, g。

附: 标准曲线制作过程:

- 1 制备标准品母液(1mg/mL): 把母液用蒸馏水稀释成五个浓度梯度的标准品: 0, 0.04, 0.08, 0.12, 0.16, 0.2mg/mL。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
- 2 依据测定管的加样体系操作, 根据结果即可制作标准曲线。