食品中氨基酸态氮含量测定试剂盒说明书

(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 C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，ΔA=A 测定管-A 空白管，		

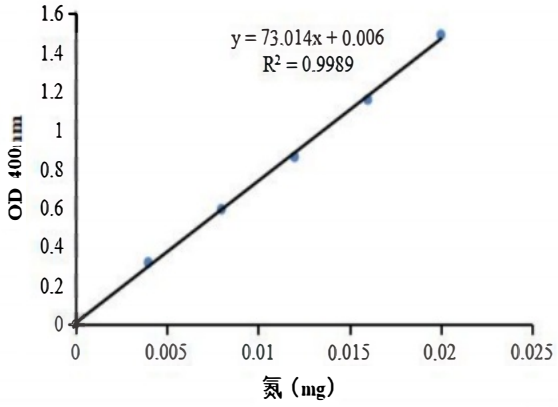
【注】1.若吸光值大于 1，样品适当稀释再测定，计算公式里乘以稀释倍数 D。

2. 若ΔA<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，△A=A 测定-A 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)=(ΔA-0.006)÷73.014÷(V1÷V×W)×D

=0.137×(ΔA-0.006)÷W×D

3、氨基酸态氮含量(mg/mL)=(ΔA-0.006)÷73.014÷V1×D

=0.137×(ΔA-0.006)×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。