

总氨基酸(T-AA)测试盒

比色法：80管/78样

一、测定原理：

铜离子（Cu²⁺）能与各种氨基酸络合产生蓝绿色络合物，在一定波长下颜色的深浅与总氨基酸的含量成正比，故可以用可见分光光度计测其吸光度，通过换算得到总氨基酸含量。

二、试剂的组成与配制：

试剂一：粉剂×1支，4℃保存6个月。

试剂二：液体5ml×1瓶，4℃保存6个月。氨基酸反应液的配制：将试剂一加双蒸水至160ml，充分混匀成蓝色混悬液，再缓慢滴加试剂二，边滴边搅至混悬液全部转换成淡蓝色透明溶液为止，4℃保存（粉剂较难溶解，试剂二滴加完后还需室温搅拌混匀半小时以上才能溶解完全）。

试剂三：粉剂×1支，4℃保存6个月。氨基酸显色剂配制：将试剂三加水至80ml充分混匀。（注意：有腐蚀性，配制时勿碰皮肤。）

试剂四：甘氨酸标准品75.07mg/支×6支，4℃保存6个月。50mmol/L甘氨酸标准溶液的配制：将75.07mg的甘氨酸标准品溶于20ml双蒸水中，充分混匀，现用现配。

试剂五：液体100ml×1瓶，4℃保存6个月。

三、操作步骤：

（一）、尿液的测定：

1、操作表：

	空白管	标准管	测定管
--	-----	-----	-----

双蒸水 (ml)	1		
50 μmol/ml 氨基酸标准液 (ml)		1	1
尿液 (ml)			
氨基酸反应液 (ml)	2	2	2
混匀, 3500 转/分离心 10 分钟, 取上清液于 650nm 处, 1 cm 光径, 双蒸水调零比色			

2、计算工式:

$$\text{尿中 T-AA 含量} = \frac{\text{测定 OD 值} - \text{空白 OD 值}}{\text{标准品浓度}} \times (50 \mu\text{mol} / \text{ml}) \times \text{稀释倍数}$$

(二)、血清 (浆) 的测定:

1、操作表:

	空白管	标准管	测定管
双蒸水 (ml)	0.3		
50 μmol/ml 氨基酸标准液 (ml)		0.3	
血清 (浆) (ml)			0.3
试剂五 (ml)	1.2	1.2	1.2
充分混匀, 3500 转/分离心 10 分钟取 1ml 上清待测。			

上清 (ml)	1	1	1
氨基酸反应液 (ml)	2	2	2
旋涡混匀			
氨基酸显色剂 (ml)	1	1	1
混匀, 3500 转/分离心 10 分钟, 取上清液于 650nm 处, 1 cm 光径, 双蒸水调零比色。			

2、计算工式:

$$\text{血清(浆)中 T-AA 含量}(\mu\text{mol} / \text{ml}) = \frac{\text{测定 OD 值} - \text{空白 OD 值}}{\text{标准品浓度}} \times \text{样本测试前} \times (50\mu\text{mol} / \text{ml}) \times \text{稀释倍数}$$

(三)、组织的测定:

1、样本前处理:

准确称取组织重量, 按重量体积比加入 9 倍生理盐水, 制成 10%匀浆, 3500 转/分离心 10 分钟, 取上清待测。同时取 10%匀浆上清进行蛋白测定。

2、操作表:

	空白管	标准管	测定管
双蒸水 (ml)	0.3		
50 μ mol/ml 氨基酸标准液 (ml)		0.3	
匀浆 (ml)			0.3
试剂五 (ml)	1.2	1.2	1.2
充分混匀, 3500 转/分离心 10 分钟取 1ml 上清待测			
上清 (ml)	1	1	1
氨基酸反应液 (ml)	2	2	2

旋涡混匀			
氨基酸显色剂 (ml)	1	1	1
混匀, 3500 转/分离心 10 分钟, 取上清液于 650nm 处, 1 cm 光径, 双蒸水调零比色。			

3、计算公式:

$$\begin{aligned}
 & \text{组织中 T-AA 含量} \\
 = & \frac{\text{测定 OD 值} - \text{空白 OD 值}}{\text{标准 OD 值} - \text{空白 OD 值}} \times \text{标准品浓度} \div \text{待测样本蛋白浓度} \\
 & (\mu\text{mol} / \text{mgprot}) \quad \text{值} \quad (50\mu\text{mol} / \text{ml}) \quad (\text{mgprot} / \text{ml})
 \end{aligned}$$