**酸水解氨基酸样品前处理方法**

1．准确称取固体样品50-200 mg（根据氨基酸的大体含量，如鱼粉可以少称，水果等可以大量称样），小心加入水解管中，注意：尽量防止挂壁。（注：如果是蛋白质或者从食物中提取的多肽样品，固体样品建议称取20-40 mg；如果样品是牛奶、果汁等，建议先用凯氏定氮法测蛋白质的含量，再量取液体样品，确保样品中含有10-20mg的蛋白）

2．小心加入1:1的分析纯盐酸（约6 M）10 ml（注：购买的分析盐酸是12 M，因此需要进行1：1稀释，然后向样品中加入10 mL 6 M的盐酸，尽量不要在这里减少盐酸体积），氮吹仪不加热吹15min后拧紧瓶盖（这里也可不使用氮吹，直接拧紧瓶盖，氮吹是为了排出瓶中空气，减少对氨基酸的氧化）。

3．置烘箱中于110℃水解22-24 h（具体时间根据自己样品来确定）。

4．样品过滤和定容。水解后的样品取出冷却至室温，开管后用水系滤纸过滤到25或50 ml小容量瓶中，水解管用去离子水洗涤三次，洗涤液过滤到容量瓶中，用去离子水洗涤滤膜，洗涤液也收集到小容量瓶中，定容至刻度线（这一步相当于是稀释，建议第一次摸索方法浓度时不要进行定容，以免浓度过低）。

5．吸取定容后的样品1-2 ml，置真空脱酸仪上脱酸。温度60℃，脱至干燥，底部留有少许固体或痕渍为止。（也可置于70℃水浴锅或70℃氮吹仪上干燥，水浴锅蒸干时应使用敞口容器以防止冷凝）（无真空脱酸仪的情况下，使用70℃氮吹仪干燥，这个速度比较快，脱酸效果好）

6．脱酸后的样品，加入1-2 ml 样品稀释缓冲液（请提前来动科学院446按量领取稀释液），置震荡混合器上混合均匀，针管吸取通过0.22 μm过滤器过滤后（过滤的步骤请来动科学院453进行），上机分析。

**注：请详细记录好每一步骤的取样量、体积，这是计算氨基酸含量时的关键数据（准确记录样品的重量、加入稀释液的体积以及最终测定的样品浓度）。**

**游离氨基酸的前处理**

1.如为固体样品，取样品置于打浆机中打碎或碾碎，备用。含油高时需去除油脂。

2秤取适量打碎样品于小烧杯中加入适量超纯水，涡旋混合2 min（尽量让样品溶于水），常温下提取氨基酸10-30 min（建议30 min），定容至25或50 ml容量瓶中（第一次摸索方法时可以不定容，以免浓度过低）。(注︰液体样品从步骤3开始，无需步骤1和2)

3.取定容后的样液4 ml于离心试管中，按样品︰磺基水杨酸（10%）=4∶1加入磺基水杨酸，混合均匀（可涡旋）。

4.置冰箱中2-4 ℃冷藏静置60 min以上。

5.置离心机中以10,000 rpm离心15 min (尽量全部取出上清并记录上清液体积)。

6.取上层清液再次以10,000 rpm离心15 min(尽量全部取出上清并记录上清液体积)。

7.用样品稀释液按1∶1--1∶100稀释（根据样品中氨氮含量确定稀释倍数，以稀释后样品瓶中氨氮含量0.01-0.006%进样合适，如酱油氨氮含量0.8，稀释100倍为0.008进样正好)（请提前来动科学院446按量领取稀释液）（这里的稀释倍数需要按照自己的样品中蛋白含量进行稀释）。

8.经0.22 μm过滤器过滤后装入试剂瓶中（过滤的步骤请来动科学院453进行），上机分析。

**注：请详细记录好每一步骤的取样量、体积，这是计算氨基酸含量时的关键数据（准确记录样品的重量、加入稀释液的体积以及最终测定的样品浓度）。**