

组胺含量检测试剂盒（微量法）

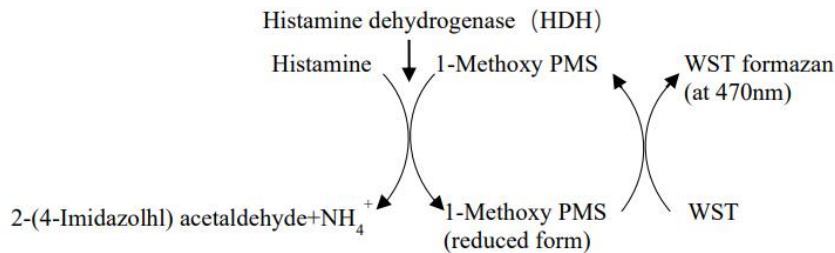
产品货号：BA2284

产品规格：100T/48S

产品说明：

组胺（Histamine）是一种有潜在危害的含氮低分子量有机化合物，是由组氨酸在脱羧酶的作用下产生的。当组织受到损伤或发生炎症和过敏反应时，都可释放组胺。组胺广泛存在于各种食品中，摄入过量的组胺会对人体产生危害。

组胺会被组胺脱氢酶（HDH）特异性分解，在1-mPMS作用下，电子转移通过WST显色，在470nm下有最大吸收峰，据此可以计算组胺含量。



注意：实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

产品组成：

| 试剂名称 | 规格 | 保存条件 |
|--------|------------|------|
| 提取液一 | 液体60mL×1瓶 | 2-8℃ |
| 提取液二 | 液体10mL×1瓶 | 2-8℃ |
| 试剂一 | 液体25mL×1瓶 | 2-8℃ |
| 试剂二 | 粉剂×1支 | 2-8℃ |
| 试剂二稀释液 | 液体2.5mL×1瓶 | 2-8℃ |
| 试剂三 | 液体8mL×1瓶 | 2-8℃ |
| 粉剂一 | 粉剂3g×1瓶 | 2-8℃ |
| 标准品 | 液体1mL×1支 | 2-8℃ |

溶液的配制：

1. 试剂二：临用前加入65 μL蒸馏水溶解，2-8℃可保存4周。
2. 试剂二工作液的配制：根据样本量按照试剂二：试剂二稀释液=10 μL：300 μL（共310 μL，约10S）的比例配制，现配现用。
3. 标准品：10 μmol/mL组胺标准液。
4. 0.1875 μmol/mL标准品配制：取75 μL 10 μmol/mL组胺标准液，加入925 μL蒸馏水，混匀配制成0.75 μmol/mL的组胺标准品；再吸取250 μL 0.75 μmol/mL组胺和750 μL蒸馏水混合配制成0.1875 μmol/mL的组胺标准溶液备用。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

需自备的仪器和用品:

可见分光光度计/酶标仪、低温离心机、微量玻璃比色皿/96孔板、可调式移液枪、匀浆器/研钵、水浴锅/恒温培养箱、冰和蒸馏水。

测定步骤:

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

1. 组织：按照质量（g）：提取液一体积（mL）为1：2.5~5的比例（建议称取约0.2g，加入1mL提取液一）加入提取液一，冰浴匀浆后，于60°C水浴30min，冷却至室温后于4°C 10000g离心10min，取0.8mL上清液，再缓慢加入0.15mL提取液二，缓慢吹打混匀至无气泡产生，4°C 10000g离心10min后取上清待测。
2. 红酒等（酚类含量高）液体：称取粉剂一0.05g，加入500μL液体样本和500μL提取液一，冰浴匀浆后，于60°C水浴30min，冷却至室温后于4°C 12000g离心10min，取0.8mL上清液，再缓慢加入0.15mL提取液二，缓慢吹打混匀至无气泡产生，4°C 10000g离心10min后取上清待测。

注：

- ① 提取液二需缓慢加入，加入后会产生大量气泡，建议使用2mL EP管进行操作。
- ② 样本提取后尽可能在2小时内测定结束，若样本量过多建议分批次处理。
- ③ 含酚类高的样本，前处理时加入粉剂一约0.05g，与样本一起冰浴匀浆。如红酒，前处理时取500μL液体样本加入500μL提取液一，和粉剂一约0.05g（无需准确称量），之后按照液体样本继续进行冰浴匀浆后等后续处理。

二、测定步骤

1. 可见分光光度计/酶标仪预热30min以上，调节波长至470nm，分光光度计用蒸馏水调零。
2. 试剂一37°C预热15min。
3. 操作表：（在1.5mL EP管或96孔板中依次加入以下试剂）：

| 试剂名称（μL） | 测定管 | 对照管 | 空白管 | 标准管 |
|----------|-----|-----|-----|-----|
| 试剂一 | 195 | 225 | 195 | 195 |
| 试剂二工作液 | 30 | - | 30 | 30 |
| 试剂三 | 45 | 45 | 45 | 45 |
| 蒸馏水 | - | - | 30 | - |
| 样本 | 30 | 30 | - | - |
| 标准品 | - | - | - | 30 |

充分混匀，37°C避光反应15min，于微量玻璃比色皿/96孔板中，测定470nm处吸光值A，记为A测定、A对照、A空白、A标准，计算 $\Delta A_{测定} = A_{测定} - A_{对照}$ ， $\Delta A_{标准} = A_{标准} - A_{空白}$ 。空白管和标准管只需测1-2次。

三、组胺含量的计算

1. 按照蛋白浓度计算

$$\begin{aligned} \text{组胺含量} (\mu\text{mol}/\text{mg prot}) &= \Delta A_{测定} \times C_{标准} \div \Delta A_{标准} \times V_{样本} \div (V_{样本} \times C_{pr}) \times F \\ &= 0.1875 \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \times C_{pr} \times F \end{aligned}$$

C标准：标准管浓度，0.1875μmol/mL；V样本：加入的样本体积，0.03mL；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL，蛋白浓度需自行测定；F：稀释倍数。

2. 按样本质量计算

$$\begin{aligned} \text{组胺含量} (\mu\text{mol}/\text{g 质量}) &= \Delta A_{测定} \times C_{标准} \div \Delta A_{标准} \times (V_{上清} + V_{提取液二}) \div (W \times V_{上清} \div V_{提取液一}) \times F \\ &= 0.223 \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \div W \times F \end{aligned}$$

C标准：标准管浓度，0.1875μmol/mL；W：样本质量，g；V上清：提取时上清液体积，0.8mL；V提取液二：加入的提取液二体积，0.15mL；V提取液一：加入的提取液一体积，1mL；F：稀释倍数。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

3. 按液体体积计算

组胺含量 ($\mu\text{mol/mL}$)

$$= \Delta A_{\text{测定}} \times C_{\text{标准}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times (V_{\text{上清}} + V_{\text{提取液二}}) \div [V_{\text{液体}} \times V_{\text{上清}} \div (V_{\text{提取液一}} + V_{\text{液体}})] \times F$$
$$= 0.445 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times F$$

C标准：标准管浓度， $0.1875\mu\text{mol/mL}$ ；V上清：提取时上清液体积， 0.8mL ；V提取液二：加入的提取液二体积， 0.15mL ；V提取液一：加入的提取液一体积， 0.5mL ；V液体：液体样本体积， 0.5mL ；F：稀释倍数。

注意事项：

1. 提取液一中含有蛋白质沉淀剂，因此上清液不能用于蛋白浓度测定。如需测定蛋白含量，需另取组织。
2. 如果样本测定吸光值小于0.05或接近空白管吸光值，可适当增大样本量，空白管和标准管也需要进行相应调整。
3. ΔA 测定大于1或者A测定大于1.5时，可用整理水稀释样本进行测定。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com