

支链淀粉含量试剂盒说明书

(货号: ADS-F-DF012 分光法 48 样)

一、产品简介:

支链淀粉, 又称胶淀粉, 难溶于水, 分子相对较大, 一般由几千个葡萄糖残基组成。利用双波长比色法测定支链淀粉与碘形成的络合物, 进而得到样本中支链淀粉的含量。

二、试剂盒的组成和配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	液体 50mL×1 瓶	4°C保存	使用前摇匀
试剂二	液体 0.6mL×1 支	4°C保存	用前 取出 0.4mL 的试剂二至干净瓶 中或 10mLEP 管中, 并加入 6.6mL 蒸馏水混合备用。
试剂三	液体 1mL×1 支	4°C保存	使用前摇匀
标准品	液体 1mL×1 支	4°C保存	若重新做标曲, 则用到该试剂。

三、所需的仪器和用品:

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿 (光径 1cm)、水浴锅、可调式移液器、研钵、乙醇、石油醚和蒸馏水。

四、支链淀粉含量测定:

1、样本提取:

① 样本烘干, 磨碎并过 100 目筛待测, 准确称取 0.01g 过筛样本至 2mL 的 EP 管中, 加入 1mL85% 的乙醇, 充分混匀, 50°C水浴提取 30min (间隔 3min 晃动几下), 冷却后, 8000rpm, 25°C离心 10min, 弃上清 (尽量保留沉淀), 留沉淀。

② 向沉淀中加入 0.5mL 石油醚, 混匀并振荡 5min, 8000rpm, 25°C离心 10min, 弃上清 (尽量保留沉淀), 留沉淀, EP 管置于 95°C蒸发 10-20min, 使石油醚挥发完全。

③ 向上步沉淀中 (同时, 准备一个空白 EP 管即空白管), 加入 0.1mL 的 95%的乙醇分散样品后, 再加入 0.9mL 试剂一, 混匀 (使样本全部沉浸在液体中), 封口, 95°C煮沸 10min (中间摇晃 1-2 次)。

④ 煮沸后, 冷却至室温, 将 EP 管中全部液体转移至 10mLEP 管中 (用 1mL 蒸馏水冲洗 EP 管, 全部转至 10mLEP 管中, 重复三次), 再加蒸馏水准确定容至 10mL, 混匀, 静置 5min, 取澄清上清液作为待检测液。

2、上机检测:

① 可见分光光度计预热 30min 以上, 蒸馏水调零。

② 制备试剂二混合液。在 2mL 的 EP 管中依次加入:

试剂 (μL)	测定管	空白管 (仅做一次)
样本待检液	250	
空白管待检液		250
蒸馏水	630	630
试剂二	100	100
试剂三	20	20

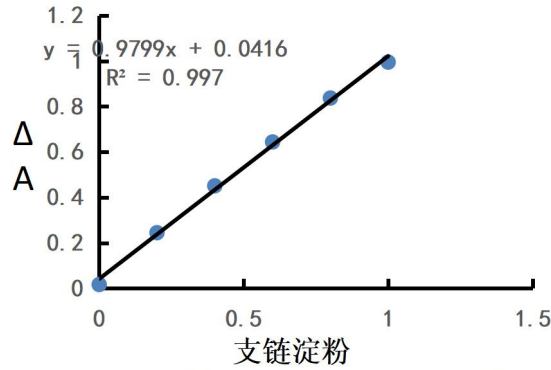
务必混匀, 避光静置 10min 后, 取出 800μL 至 1mL 玻璃比色皿 (光径 1cm) 中, 分别测定 540 和 740nm 处吸光

值, A 测定=A540-A740, A 空白=A540-A740, $\Delta A=A$ 测定- A 空白。

【注】加完试剂二, 混合液的 PH 于 3-5 之间, 若大于 5 则继续添加试剂二, 蒸馏水体积相应减少, 保持总体积 1mL 不变。

五、结果计算:

1、标准曲线: $y = 0.9799x + 0.0416$; x 为标准品浓度 (mg/mL), y 为 ΔA 。



2、支链淀粉含量(mg/g 干重)=[$(\Delta A - 0.0416) \div 0.9799 \times V1$] $\div (W \times V1 \div V)$
=10.21 $\times (\Delta A - 0.0416) \div W$

V---样品提取液总体积, 10mL;

V1---测定时所取样本的体积, 0.25mL;

W---样本质量, g。

附: 标准曲线制作过程:

- 1 制备试剂一稀释液: 0.9mL 试剂一+9.1mL 的蒸馏水, 总体积为 10mL。
- 2 把标准品母液 (1mg/mL 的支链淀粉标准品, 若没有完全溶解可超声至完全溶解) 用试剂一稀释液稀释成六个浓度梯度的标准品: 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1. mg/mL。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
- 3 依据测定管的加样表操作, 根据结果即可制作标准曲线。