

## 支链淀粉含量试剂盒说明书

(货号: ADS-W-DF012 微板法 96 样 有效期: 9 个月)

### 一、指标介绍:

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:

| 试剂组分 | 试剂规格          | 存放温度   | 注意事项                                                          |
|------|---------------|--------|---------------------------------------------------------------|
| 试剂一  | 液体 90mL×1 瓶   | 4℃保存   | 1. 使用前摇匀;<br>2. 保存周期与试剂盒有效期相同。                                |
| 试剂二  | 液体 13.2mL×1 瓶 | 4℃保存   | 1. 使用前加入 0.8mL 浓盐酸混合备用;<br>2. 保存周期与试剂盒有效期相同。                  |
| 试剂三  | 液体 2mL×1 支    | 4℃避光保存 | 1. 使用前摇匀;<br>2. 保存周期与试剂盒有效期相同。                                |
| 标准品  | 粉体×1 支        | 4℃保存   | 1. 若重新做标曲, 则用到该试剂;<br>2. 按照说明书中标曲制作步骤进行配制;<br>3. 溶解后的标品一周内用完。 |

### 三、实验器材:

研钵 (匀浆机)、冰盒 (制冰机)、台式离心机、可调式移液枪、水浴锅 (烘箱、培养箱、金属浴)、96 孔板、离心管、酶标仪、乙醇、石油醚、蒸馏水 (去离子水、超纯水均可)。

### 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℃水浴提取 30min (间隔 3min 晃动几下), 冷却后, 8000rpm, 25℃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℃离心 10min, 弃上清 (尽量保留沉淀), 留沉淀, EP 管置于 95℃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, 晃匀 (使样本全部沉浸在液体中), 封口, 95℃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、检测步骤:

- ① 酶标仪预热 30min 以上。
- ② 制备试剂二混合液。在 2mL 的 EP 管中依次加入:

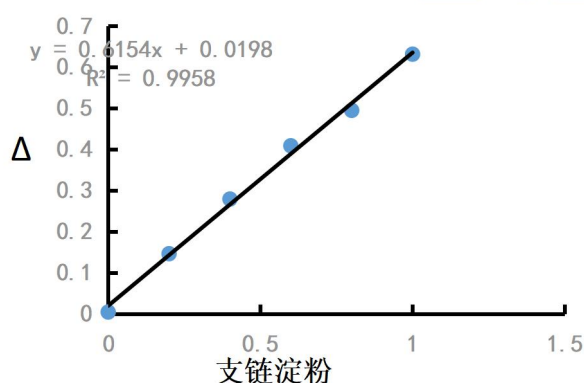
| 试剂 (μL) | 测定管 | 空白管 (仅做一次) |
|---------|-----|------------|
| 样本待检液   | 250 |            |
| 空白管待检液  |     | 250        |

|                                                                                                                                      |     |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|-----|
| 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 200μL 至 96 孔板中，分别测定 540 和 740nm 处吸光值，A 测定=A540-A740，A 空白= A540-A740， $\Delta A = A \text{ 测定} - A \text{ 空白}$ 。 |     |     |

【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： $y = 0.6154x + 0.0198$ ；x 为标准品浓度（mg/mL），y 为  $\Delta A$ 。



2、支链淀粉含量(mg/g 干重)=[ $(\Delta A - 0.0198) \div 0.6154 \times V1$ ] $\div (W \times V1 \div V)$   
=16.25 $\times (\Delta A - 0.0198) \div W$

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 制备标准品母液：向标准品 EP 管里面加入 0.09mL 的试剂一溶解(可 90 度加热溶解)，再加 0.91mL 蒸馏水定容至 1mL，作为标准品母液
- 2 制备试剂一稀释液：0.9mL 试剂一+9.1mL 的蒸馏水，总体积为 10mL。
- 3 把标准品母液（1mg/mL 的支链淀粉标准品）：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。
- 4 依据测定管的加样表操作，根据结果即可制作标准曲线。