

直链淀粉含量试剂盒说明书

(货号: BP10268F 分光法 48 样 有效期: 9 个月)

一、产品简介:

直链淀粉是D-葡萄糖基以 α -(1,4)糖苷键连接的多糖链, 其含量测定对于评价食品营养价值和调查植物体内糖代谢都有重要意义。

直链淀粉与碘形成的络合物在 620nm 下有吸收峰, 进而得到样本中直链淀粉的含量。

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 45mL×1 瓶	4°C保存	1. 使用前摇匀; 2. 保存周期与试剂盒有效期相同。
试剂二	液体 1.65mL×1 支	4°C保存	1. 用前加入 0.1mL 浓盐酸混合备用; 2. 保存周期与试剂盒有效期相同。
试剂三	液体 1mL×1 支	4°C避光保存	1. 使用前摇匀; 2. 保存周期与试剂盒有效期相同。
标准品	粉体×1 支	4°C保存	1. 若重新做标曲, 则用到该试剂; 2. 按照说明书中标曲制作步骤进行配制; 3. 溶解后的标品一周内用完。

三、所需的仪器和用品:

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)、1ml 比色皿、离心管、分光光度计、乙醇、石油醚、蒸馏水(去离子水、超纯水均可)。

四、指标测定:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定, 了解本批样品情况, 熟悉实验流程, 避免实验样本和试剂浪费!

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), 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, 晃匀(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：

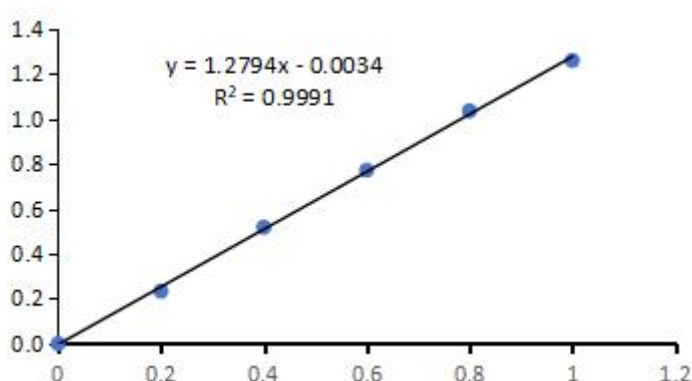
- ① 分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 620nm，蒸馏水调零。
- ② 制备试剂二混合液。在 2mL 的 EP 管中依次加入：

试剂 (μL)	测定管	空白管 (仅做一次)
样本待检液	50	
空白管待检液		50
蒸馏水	910	910
试剂二	20	20
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， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ 。		

【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、标准曲线方程为 $y = 1.2794x - 0.0034$ ；x 为标准品浓度 (mg/mL)，y 为吸光值 ΔA 。



- 2、直链淀粉含量(mg/g)=[$(\Delta A + 0.0034) \div 1.2794 \times V1$] $\div (W \times V1 \div V)$

$$= 7.816 \times (\Delta A + 0.0034) \div W$$

- 3、按照蛋白浓度计算：

$$\text{直链淀粉含量(mg/mg prot)} = [(\Delta A + 0.0034) \div 1.2794 \times V1] \div (Cpr \times V1 \div V)$$

$$= 7.816 \times (\Delta A + 0.0034) \div Cpr$$

V---样品提取液总体积，10mL； V1---测定时所取样本的体积，0.05mL；

W---样本质量，g；

Cpr---蛋白浓度 (mg/mL)； 建议使用本公司的 BCA 蛋白含量检测试剂盒。

附：标准曲线制作过程：

- 1 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，标准品母液浓度为 1mg/mL。将母液用试剂一稀释液（制备试剂一稀释液：0.9mL 试剂一+9.1mL 的蒸馏水，总体积为 10mL）稀释成六个浓度梯度的标准品，例如：0，

0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1. mg/mL。也可根据实际样本调整标准品浓度。

2 标品稀释参照表如下：

标品浓度 mg/mL	0	0.2	0.4	0.6	0.8	1
标品稀释液 uL	0	40	80	120	160	200
水 uL	200	160	120	80	40	0
各标准管混匀待用。						

3 依据测定管的加样表操作，根据结果，以各浓度吸光值减去 0 浓度吸光值，过 0 点制作标准曲线。

试剂名称 (μL)	标准管	0 浓度管 (仅做一次)
标品	50	
蒸馏水	910	960
试剂二	20	20
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，于 620nm 处读取吸光值 A， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{0 浓度管}}$		