

## 直链淀粉含量试剂盒说明书

(货号: BP10268W 微板法 96 样 有效期: 9 个月)

### 一、指标介绍:

直链淀粉是 D-葡萄糖基以  $\alpha$ -(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。

直链淀粉与碘形成络合物于 620nm 处读取吸光值, 进而得到样本中直链淀粉的含量。

### 二、测试盒组成和配制:

| 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°C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 1 瓶      | 4°C保存   | 1. <b>用前</b> 加入 0.2mL 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°C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°C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、指标测定:

建议先选取 1-3 个差异大的样本 (例如不同类型或分组) 进行预实验, 熟悉操作流程, 根据预实验结果确定或调整样本浓度, 以防造成样本或试剂不必要的浪费!

#### 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、检测步骤:

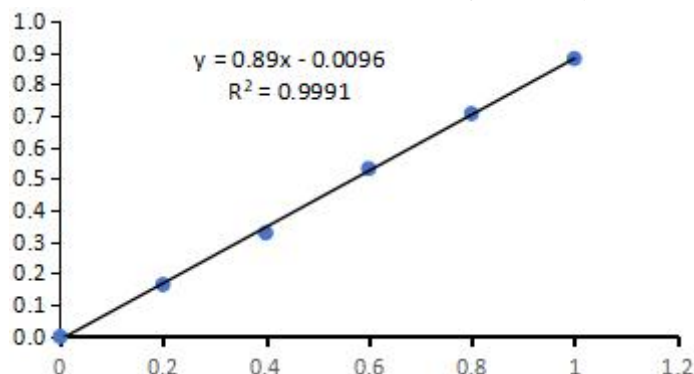
- ① 酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 620nm。
- ② 制备试剂二混合液。在 2mL 的 EP 管中依次加入：

| 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 200μL 至 96 孔板中，于 620nm 处读取吸光值 A， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ 。 |     |            |

【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  $y = 0.89x - 0.0096$ ；x 为标准品浓度 (mg/mL)，y 为吸光值  $\Delta A$ 。



- 2、直链淀粉含量(mg/g)=[ $(\Delta A + 0.0096) \div 0.89 \times V1$ ] $\div (W \times V1 \div V)$   
 $= 11.236 \times (\Delta A + 0.0096) \div W$

- 3、按蛋白浓度计算：

$$\text{直链淀粉含量(mg/mg prot)} = [(\Delta A + 0.0096) \div 0.89 \times V1] \div (Cpr \times V1 \div V)$$

$$= 11.236 \times (\Delta A + 0.0096) \div Cpr$$

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。

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<br>mg/mL | 0 | 0.2 | 0.4 | 0.6 | 0.8 | 1   |
|---------------|---|-----|-----|-----|-----|-----|
| 标品稀释液<br>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 200μL 至 96 孔板中，于 620nm 处读取吸光值 A， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{0 浓度管}}$ 。 |     |              |