

支链淀粉含量试剂盒说明书

(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℃保存	使用前摇匀
试剂二	液体 0.6mL×1 支	4℃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℃保存	使用前摇匀
标准品	液体 1mL×1 支	4℃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℃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，混匀（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、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:

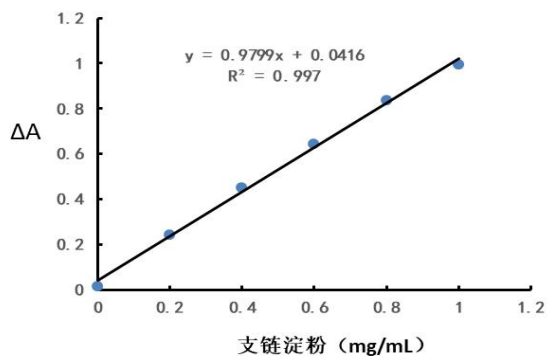
试剂 (μL)	测定管	空白管 (仅做一次)
样本待检液	250	
空白管待检液		250
蒸馏水	630	630
试剂二	100	100
试剂三	20	20

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。