

直链淀粉含量试剂盒说明书

(微板法 96 样)

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:

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	液体 90mL×1 瓶	4°C保存	使用前摇匀
试剂二	液体 0.4mL×1 支	4°C保存	用前 取出 0.2mL 试剂二至干净瓶中或 10mLEP 管中,并加入 3.3mL 蒸馏水混合备用。
试剂三	液体 2mL×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:

酶标仪、96 孔板、水浴锅、可调式移液器、乙醇、石油醚、蒸馏水。

四、直链淀粉含量测定:

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 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 (μ L)	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

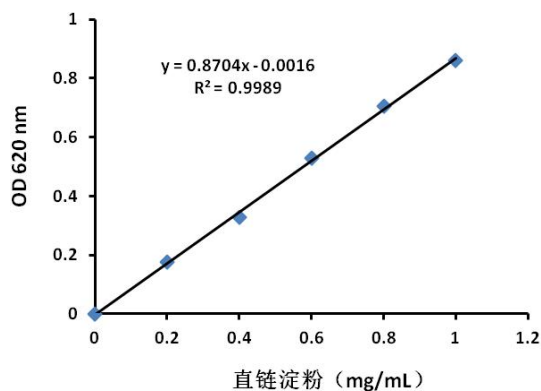
务必混匀,避光静置 10min 后,取出 200 μ L 至 96 孔板

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 $y = 0.8704x - 0.0016$ ；x 为标准品浓度（mg/mL），y 为吸光值 ΔA 。



2、直链淀粉含量(mg/g) = $[(\Delta A + 0.0016) \div 0.8704 \times V1] \div (W \times V1 \div V)$
= $11.489 \times (\Delta A + 0.0016) \div W$

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 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 的直链淀粉标准品）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。
 - 3 依据测定管的加样表操作，根据结果即可制作标准曲线。
-