

上海茁彩生物科技有限公司
Shanghai zcibio technology Co.,Ltd.



生化检测原理示意图

直链淀粉含量检测试剂盒说明书

微量法

注意：正式测定之前选择2-3个预期差异大的样本做预测定。

产品组成：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系工作人员。

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
试剂一	液体 110 mL×1 瓶	2-8℃保存	
试剂二	液体 100 mL×1 瓶（自备）	2-8℃保存	
试剂三	液体 55 mL×1 瓶	2-8℃保存	
试剂四	-	2-8℃保存	
试剂五	液体 0.5 mL×1 支	2-8℃保存	
试剂六	液体 10mL×1 支	2-8℃保存	
标准品	粉剂×1 支	2-8℃保存	

溶液的配制：

- 1、试剂二：乙醚 100 mL自备；
- 2、试剂四：提供 125 mL空瓶一个；将试剂三：H₂O =9 mL：91 mL 混匀，现用现配，2-8℃保存半年；
- 3、标准品：10 mg 直链淀粉。临用前加入 0.1 mL 无水乙醇和 0.9 mL 试剂三，混匀后封口膜封口，沸水浴至溶解，即 10 mg/mL 的直链淀粉，2-8℃保存半年。

产品说明：

直链淀粉是 D-葡萄糖基以 α-(1,4)糖苷键链接的多糖链，直链淀粉含量影响着食品的食品品质和外观品质，与食品安全息息相关。

直链淀粉和碘形成蓝色络合物，利用乙醇分开样本中的可溶性糖和淀粉，再用碘与其反应得到直链淀粉含量。



技术指标：

最低检出限：0.0019 mg/mL

线性范围：0.025-0.8 mg/mL

注意：实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、天平、台式离心机、微量玻璃比色皿/96 孔板、可调式移液枪、研钵/匀浆器、乙醚、无水乙醇、EP 管、蒸馏水。

操作步骤:

一、样本处理 (可适当调整待测样本量, 具体比例可以参考文献)

- 1 称取 0.01g 烘干样本, 加入 1mL 试剂一, 充分匀浆;
- 2 80°C 水浴提取 30min, 3000g, 25°C 离心 5min, 弃上清, 留沉淀;
- 3 在步骤2沉淀中加入1mL试剂二 (乙醚) 振荡 5min; 3000g, 25°C 离心 5min, 弃上清, 留沉淀;
- 4 在步骤3沉淀中加入5mL试剂四充分溶解, 90°C 水浴10min, 冷却后3000g, 25°C 离心5min, 取上清待测。

二、测定步骤

- 1、分光光度计/酶标仪预热 30min以上, 调节双波长至 550nm和 485nm, 分光光度计蒸馏水调零。
- 2、标准溶液的稀释: 取 40 μL 10mg/mL 标准溶液, 加入 960 μL试剂四, 充分混匀, 配制成 0.4mg/mL 标准溶液使用, 现用现配。(实验中每管需要 20 μL, 为减小实验误差, 故配制大体积。)

3、操作表 (在 1.5mL 离心管或 96 孔板中依次加入下列试剂) :

试剂名称	测定管	标准管	空白管
样本 (μL)	20	-	-
标准溶液 (μL)	-	20	-
蒸馏水 (μL)	-	-	20
试剂五 (μL)	4	4	4
试剂六 (μL)	4	4	4
蒸馏水 (μL)	172	172	172

充分混匀, 测定550nm和485nm处的吸光值, 550nm下的测定管、标准管、空白管分别记为 A测定、A标准和 A空白, 485nm下的分别记为 A' 测定、A' 标准和 A' 空白, 计算 $\Delta A_{\text{测定}} = (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) - (A'_{\text{测定}} - A'_{\text{空白}})$, $\Delta A_{\text{标准}} = (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) - (A'_{\text{标准}} - A'_{\text{空白}})$ 。标准管和空白管只需测 1-2次。

三、直链淀粉含量计算

直链淀粉含量 (mg/g 质量) = $\Delta A_{\text{测定}} \div (\Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{标准}}) \times V_{\text{样总}} \div W = 2 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W$

C 标准: 标准溶液浓度, 0.4mg/mL; V 样总: 加入试剂四体积, 5mL; W: 样本质量, g。

注意事项:

1. 反应后建议在 20min 内检测完成防止褪色。
2. 若 A 测定大于 0.95, 建议样本上清用试剂四稀释后再进行测定; 若 A测定低于 0.07 时, 可以提取时减少试剂四体积进行测定。注意同步修改计算公式。

实验实例：

- 1、取 0.01g 烘干玉米于研钵中研碎，加入 1mL 试剂一，充分匀浆后转移到 EP 管中，80°C水浴提取 30min，3000g，25°C离心 5min，弃上清，留沉淀，加入 1mL 试剂二（乙醚）振荡 5min，3000g，25°C离心 5min，弃上清，留沉淀，加入 5mL 试剂四充分溶解，90°C水浴 10min，冷却后 3000g，25°C离心 5min，取上清，之后按照测定步骤操作，使用 96 孔板测得计算 ΔA 测定 = (A 测定 - A 空白) - (A' 测定 - A' 空白) = (0.395 - 0.047) - (0.283 - 0.058) = 0.123， ΔA 标准 = (A 标准 - A 空白) - (A' 标准 - A' 空白) = (0.517 - 0.047) - (0.317 - 0.058) = 0.211，按样本质量计算含量得：直链淀粉含量 (mg/g 质量) = $2 \times \Delta A$ 测定 \div ΔA 标准 \div W = 116.59 mg/g 质量。