

上海茁彩生物科技有限公司
ZCIBIO Technology Co., Ltd



生化检测原理示意图

Cat. NO: ZC-S0983

Size: 100T/96S

支链淀粉含量检测试剂盒说明书

微量法

*正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定（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）。

一、测定意义：

支链淀粉又称胶淀粉，一般由几千个葡萄糖残基组成，淀粉中直链淀粉和支链淀粉的比例和含量对淀粉产品的加工、物化特性、糊化温度等有着直接的影响。

二、测定原理：

支链淀粉和碘形成红紫色络合物，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支链淀粉含量。



技术指标：

最低检出限：0.0193 mg/mL

线性范围：0.025- 1 mg/mL

三、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。

四、试剂的组成和配置：

试剂名称	规格	保存条件
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 2 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂六	液体 10mL×1 瓶	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 100mL 自备。
- 2、试剂四：提供 125mL 空瓶一个；将试剂三：H₂O =9 mL：91mL 混匀，现用现配，2-8℃保存半年。
- 3、标准品：10mg 支链淀粉。临用前加入 0.1mL 无水乙醇和 0.9mL 试剂三，混匀后封口膜封口，沸水浴至溶解，即 10 mg/mL 的支链淀粉，2-8℃保存半年。

五、操作步骤：

- 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 0.005g 烘干样本，加入 1mL 试剂一，充分匀浆；
 - 2、80℃水浴提取 30min，3000g，25℃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℃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。

● 测定步骤

1、分光光度计/酶标仪预热30min以上,调节双波长至530nm和755nm,分光光度计蒸馏水调零。

2、标准液的稀释:将10mg/mL的标准溶液用试剂四稀释至1、0.8、0.6、0.4、0.2、0.1、0.05mg/mL标准溶液待测。

3、标准液稀释可参考下表:

序号	稀释前浓度 (mg/mL)	标准液体积 (μL)	试剂四体积 (μL)	稀释后浓度 (mg/mL)
1	10	100	900	1
2	1	160	40	0.8
3	1	120	80	0.6
4	1	160	240	0.4
5	0.4	200	200	0.2
6	0.2	200	200	0.1
7	0.1	200	200	0.05

备注: 实验中每个标准管需40μL标准溶液。

4、操作表:(在1.5mL离心管中或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)	40	-	-
标准溶液 (μL)	-	40	-
蒸馏水 (μL)	-	-	40

试剂五(μL)	15	15	15
试剂六(μL)	10	10	10
蒸馏水(μL)	135	135	135

充分混匀，测定 530nm 和 755nm 处的吸光值，530nm 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，755nm 下的分别记为 A' 测定、A' 标准、A' 空白，计算 ΔA 测定 = (A 测定 - A 空白) - (A' 测定 - A' 空白)， ΔA 标准 = (A 标准 - A 空白) - (A' 标准 - A' 空白)。标准曲线和空白管只需测定 1-2 次。

六、支链淀粉含量计算

1、标准曲线的建立

以支链淀粉标准溶液浓度为 x 轴 (x, mg/mL), 标准溶液对应的 ΔA 标准为 y 轴 (y, ΔA 标准), 建立标准曲线, 得到标准方程 $y=kx+b$, 将 ΔA 测定带入方程得到 x (mg/mL)。

2、支链淀粉含量 (mg/g 质量) = $x \times V$ 样总 $\div W = 5x \div W$

V 样总: 加入试剂四体积, 5mL; W: 样本质量, g。

七、注意事项:

- 1、反应后建议在 20min 内检测完成防止褪色。
- 2、如果测定吸光值超过线性范围吸光值, 可以增加样本量或者稀释样本后再进行测定。注意同步修改计算公式。

八、实验实例:

1. 取 0.01g 大米于研钵中研碎, 加入 1mL 试剂一, 进行样本处理, 取上清 3 倍稀释后按照测定步骤操作, 用 96 孔板测得计算

ΔA 测定 = (A 测定 - A 空白) - (A' 测定 - A' 空白) = (0.351 - 0.059) - (0.190 - 0.048) = 0.150,
带入标准曲线 $y=0.5157x+0.0089$ 计算 $x=0.2736$,

按样本质量计算含量得:

支链淀粉含量 (mg/g 质量) = $5x \div W \times 3$ (稀释倍数) = 410.4 mg/g 质量。