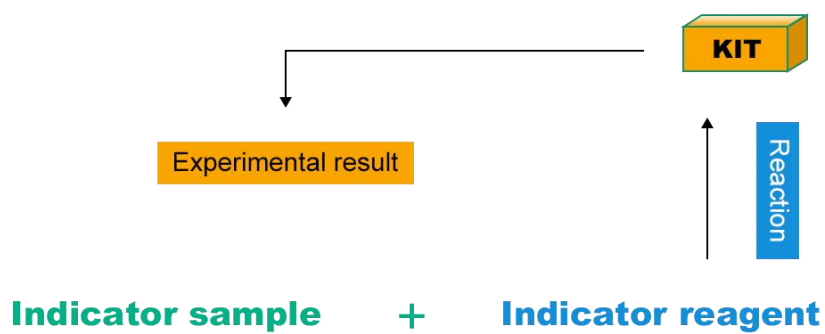


上海茁彩生物科技有限公司
ZCIBIO Technology Co., Ltd



生化检测原理示意图

Cat. NO: ZC-S0985

Size: 50T/48S

支链淀粉含量检测试剂盒说明书

可见分光光度法

***正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定**

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。



最低检出限：0.0044 mg/mL

线性范围：0.0125-0.5 mg/mL

三、需自备的仪器和用品：

可见分光光度计、天平、台式离心机、1mL 玻璃比色皿、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：

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
试剂一	液体 60 mL×1 瓶	2-8℃保存	
试剂二	液体 50 mL×1 瓶（自备）	2-8℃保存	
试剂三	液体 30 mL×1 瓶	2-8℃保存	
试剂四	-	2-8℃保存	
试剂五	液体 6 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 50 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 支链淀粉。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℃水浴 10min，冷却后 3000g，25℃离心

5min, 取上清待测。

● 测定步骤

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

2、标准液的稀释: 将 10 mg/mL 的标准溶液用试剂四稀释至 0.5、0.4、0.2、0.1、0.05、0.025、0.0125 mg/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	1900	0.5
2	0.5	800	200	0.4
3	0.4	500	500	0.2
4	0.2	500	500	0.1
5	0.1	500	500	0.05
6	0.05	500	500	0.025
7	0.025	500	500	0.0125

备注: 实验中每个标准管需 200μL 标准溶液。4、操作表: (在 1.5mL 离心管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)	200	—	—
标准溶液 (μL)	—	200	—
蒸馏水 (μL)	—	—	200
试剂五 (μL)	75	75	75
试剂六 (μL)	50	50	50

蒸馏水 (μL)	675	675	675
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) = $x \times V \text{ 样总} \div W = 5x \div W$

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。