

直链淀粉含量试剂盒说明书(精简版)

(货号: A152-1-1 比色法 50T/48 样)

一、测定意义:

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。

二、测定原理:

利用 80%乙醇可以把样品中可溶性糖与淀粉分开, 直链淀粉与碘形成的络合物在 620nm 下有吸收峰。

三、自备仪器和用品:

可见分光光度计、水浴锅、可调式移液器、1mL 比色皿、乙醚(或石油醚)和蒸馏水。

四、试剂组成和配制: (试剂盒有效期 3 个月)

试剂一: 液体 50mL×1 瓶; 4℃保存;

试剂二: 乙醚(或石油醚)(分析纯); (自备)

试剂三: 液体 60mL×1 瓶; 4℃保存;

试剂四: 液体 5mL×1 瓶; 4℃保存;

试剂五: 液体 1mL×1 瓶; 4℃保存。

试剂六: 直链淀粉标准品 10mg×1 支; 4℃保存。(配置方法见后面标准曲线制备)

五、样本前处理:

干样: 先于研钵中研碎(或液氮下研碎)成细粉状, 然后称取 0.01~0.02g(建议称取约 0.01g)于 EP 管中, 加入 1mL 试剂一, 充分混匀约 30s, 80℃水浴提取 30min, 4000 转/分钟常温离心 5min, 弃上清, 留沉淀, 加入 1mL 试剂二振荡混匀 5min, 4000 转/分钟常温离心 5min, 弃上清, 留沉淀(吸到最后剩余的试剂二无法准确吸出, 可以将 EP 管置于 37℃烘箱中烘 5-10 分钟后取出), 加入 1mL 试剂三充分混匀, 90℃水浴 10min 溶解, 冷却后待测。

鲜样: 称取约 0.1g, 加入 1mL 试剂一, 封闭研磨匀浆, 取出 80℃水浴提取 30min, 4000 转/分钟常温离心 5min, 弃上清, 留沉淀, 加入 1mL 试剂二振荡混匀 5min, 4000 转/分钟常温离心 5min, 弃上清, 留沉淀(吸到最后剩余的试剂二无法准确吸出, 可以将 EP 管置于 37℃烘箱中烘 5-10 分钟后取出), 加入 1mL 试剂三充分混匀, 90℃水浴 10min 溶解, 冷却后待测

六、操作步骤:

	空白管	标准管	沉淀管
试剂三(μL)	100		
不同浓度标准液(μL)		100	
样本(μL)			100
试剂四(μL)	70	70	70
蒸馏水(μL)	620	620	620
试剂五(μL)	10	10	10
蒸馏水(μL)	200	200	200
混匀, 波长 620nm, 1mL 比色皿, 蒸馏水调零, 测定各管吸光度值。			

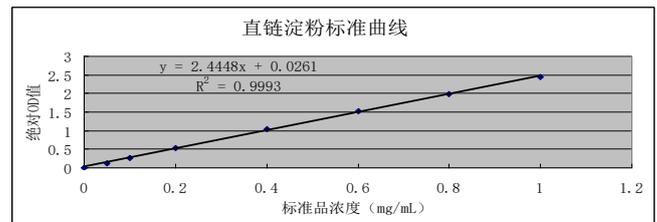
七、计算:

1、制作标准曲线: (下方数据供用户参考, 实际值按用

户自己制作的标曲为准)

往 1 支标准品粉剂中加入 1mL 试剂三, 漩涡充分混匀, 待完全溶解后即为 10mg/mL 标准应用液, 并将 10mg/mL 标准液再用试剂三分别稀释成 0.05、0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0mg/mL 几个浓度来制作标准曲线: (数据如下)

作图如下 (EXCEL 表制作):



2、按照样本质量计算:

$$\text{直链淀粉含量 (mg/g 组织)} = \frac{A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}} - 0.0261}{2.4448} \times V_{\text{提取液}} \div W$$

3、按照样本蛋白浓度计算:

$$\text{直链淀粉含量 (mg/g 蛋白)} = \frac{A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}} - 0.0261}{2.4448} \div C_{\text{pr}}$$

$V_{\text{提取液}}$: 样本前处理后提取液总体积, 1mL;

W : 样本质量, g;

C_{pr} : 样本蛋白浓度, gprot/mL (prot 指蛋白)。

八、注意事项:

- 1、样本前处理中加试剂三前尽量让乙醚(或石油醚)蒸发干净, 然后震荡混匀将沉淀分散开, 以便于 90℃水浴后能充分溶解;
- 2、乙醚(或石油醚)吸取比较困难, 可以选择玻璃移液器, 有些微体积误差也不影响实验;
- 3、标准品为直链淀粉纯品, 加入试剂三后常温即可溶解, 标准曲线只需做一次;
- 4、样本前处理好后, 需要取 1-2 个相对差异较大的样本作预试, 以确定样本最佳浓度(一般建议选择样本测定 OD 值 ≤ 1 的浓度来测定)。
- 5、如酶标仪有相应波长, 也可以将最后的显色液吸取 200-300μL 进 96 孔板读吸光值, 此时必须自己制作标准曲线用同样的方式读数。