

支链淀粉含量试剂盒(碘比色法)(分光法)

产品货号: BA3404

产品规格: 48样

产品简介:

支链淀粉，又称胶淀粉，难溶于水，分子相对较大，一般由几千个葡萄糖残基组成。利用双波长比色法测定支链淀粉与碘形成的络合物，进而得到样本中支链淀粉的含量。

产品内容:

产品名称	规格	保存条件	注意事项
试剂一	液体50mL×1瓶	2-8°C	1. 使用前摇匀; 2. 保存周期与试剂盒有效期相同。
试剂二	液体6.6mL×1瓶	2-8°C	1. 用前加入0.4mL浓盐酸混合备用; 2. 保存周期与试剂盒有效期。
试剂三	液体1mL×1支	2-8°C, 避光	1. 使用前摇匀; 2. 保存周期与试剂盒有效期相同。
标准品	粉剂×1支	2-8°C	1. 若重新做标曲，则用到该试剂; 2. 按照说明书中标曲制作步骤进行配制; 3. 溶解后的标品一周内用完。

实验器材:

研钵（匀浆机）、冰盒（制冰机）、台式离心机、可调式移液枪、水浴锅（烘箱、培养箱、金属浴）、1ml比色皿、离心管、分光光度计、乙醇、石油醚、蒸馏水（去离子水、超纯水均可）。

指标测定:

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 1mL 85% 的乙醇，充分混匀，50°C 水浴提取 30min（间隔 3min 晃动几下），冷却后，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 10mL EP 管中（用 1mL 蒸馏水冲洗 EP 管，全部转至 10mL EP 管中，重复三次），再加蒸馏水至 10mL，混匀，静置 5min，取澄清上清液作为待检测液。

2. 上机检测:

- ① 分光光度计预热 30min 以上，蒸馏水调零。
- ② 制备试剂二混合液。在 2mL 的 EP 管中依次加入：

试剂名称 (μL)	测定管	空白管 (仅做一次)
样本待测液	250	
空白管待检液		250
蒸馏水	630	630
试剂二	100	100
试剂三	20	20

务必混匀，避光静置 10min 后，取出 800μL 至 1mL 玻璃比色皿（光径 1cm）中，分别测定 540 和 740nm 处吸光值，A 测定=A540-A740，A 空白



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

QQ: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

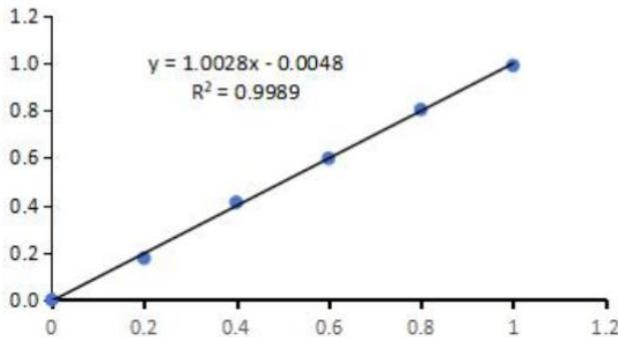
<http://www.saint-bio.com>

$=A_{540}-A_{740}$, $\Delta A = A$ 测定 - A 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。

结果计算：

- 标准曲线: $y = 1.0028x - 0.0048$; x 为标准品浓度 (mg/mL), y 为 ΔA 。



- 支链淀粉含量(mg/g 干重)=[($\Delta A+0.0048$) $\div 1.0028 \times V_1$] $\div (W \times V_1 \div V)$
 $=9.97 \times (\Delta A+0.0048) \div W$

- 按照蛋白浓度计算:

$$\text{支链淀粉含量(mg/mg prot)}=[(\Delta A+0.0048) \div 1.0028 \times V_1] \div (C_{pr} \times V_1 \div V)$$

$$=9.97 \times (\Delta A+0.0048) \div C_{pr}$$

V---样品提取液总体积, 10mL; V1---测定时所取样本的体积, 0.25mL; W---样本质量, g;

Cpr---蛋白浓度 (mg/mL); 建议使用本公司的 BCA 蛋白含量检测试剂盒。

附: 标准曲线制作过程:

- 向标准品 EP 管里面加入 0.09mL 的试剂一溶解 (可 90 度加热溶解), 再加 0.91mL 蒸馏水定容至 1mL, 作为标准品母液, 标准品母液浓度为 1mg/mL。将母液用试剂一稀释液(制备试剂一稀释液: 0.9mL 试剂一 + 9.1mL 的蒸馏水, 总体积为 10mL) 稀释成六个浓度梯度的标准品, 例如: 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1. mg/mL。也可根据实际样本调整标准品浓度。
- 标品稀释参照表如下。

标品浓度 mg/mL	0	0.2	0.4	0.6	0.8	1
标品稀释液 uL	0	80	160	240	320	400
水 uL	400	320	240	160	80	0
各标准管混匀待用。						

- 依据测定管的加样表操作, 根据结果, 以各浓度吸光值减去 0 浓度吸光值, 过 0 点制作标准曲线。

试剂名称 (μL)	标准管	0 浓度管 (仅做一次)
标品	250	
蒸馏水	630	880
试剂二	100	100
试剂三	20	20

务必混匀, 避光静置 10min 后, 取出 800 μL 至 1mL 玻璃比色皿 (光径 1cm) 中, 分别测定 540 和 740nm 处吸光值, A 测定= $A_{540}-A_{740}$, A_0 浓度管= $A_{540}-A_{740}$, $\Delta A=A$ 测定-0 浓度管。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

QQ: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

<http://www.saint-bio.com>