

支链淀粉含量试剂盒(碘比色法)(微板法)

产品货号: BA3405

产品规格: 96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90mL×1瓶	2-8℃	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13.2mL×1瓶	2-8℃	1. 用前加入0.8mL浓盐酸混合备用; 2. 保存周期与试剂盒有效期。
试剂三	液体2mL×1支	2-8℃, 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℃	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)、96孔板、离心管、酶标仪、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 1mL85%的乙醇, 充分混匀, 50℃水浴提取 30min (间隔 3min 晃动几下), 冷却后, 8000rpm, 25℃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℃离心 10min, 弃上清(尽量保留沉淀), 留沉淀, EP 管置于 95℃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℃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), 再加蒸馏水准确定容至 10mL, 混匀, 静置 5min, 取澄清上清液作为待检测液。

2. 检测步骤:

- ① 酶标仪预热 30min 以上。
- 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	
空白管待检测液		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 200μL 至 96 孔板中, 分别测定 540 和 740nm 处吸光值, A 测定=A540-A740, A 空白= A540-A740, ΔA= 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



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

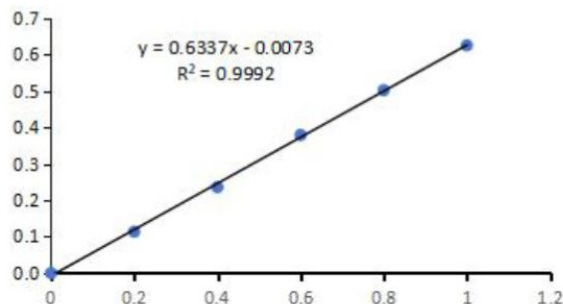
Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzybio@126.com

变。

结果计算:

- 标准曲线: $y = 0.6337x - 0.0073$; x 为标准品浓度 (mg/mL), y 为 ΔA 。



- 按样本干重计算:

$$\text{支链淀粉含量(mg/g 干重)} = [(\Delta A + 0.0073) \div 0.6337 \times V_1] \div (W \times V_1 \div V) \\ = 15.78 \times (\Delta A + 0.0073) \div W$$

- 按蛋白浓度计算:

$$\text{支链淀粉含量(mg/mg prot)} = [(\Delta A + 0.0073) \div 0.6337 \times V_1] \div (C_{pr} \times V_1 \div V) \\ = 15.78 \times (\Delta A + 0.0073) \div C_{pr}$$

V ---样品提取液总体积, 10mL; V_1 ---测定时所取样品的体积, 0.25mL; W ---样本质量, g。

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 200μL 至 96 孔板中, 分别测定 540 和 740nm 处吸光值, $A_{测定} = A_{540} - A_{740}$, $A_0 \text{ 浓度管} = A_{540} - A_{740}$, $\Delta A = A_{测定} - A_0 \text{ 浓度管}$ 。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com