

支链淀粉含量试剂盒说明书

微量法 100 管/96 样

注 意：正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

测定意义：

支链淀粉是具有高度分支的多糖，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，对于不同比例直、支链淀粉的淀粉的研究具有重要的意义。

测定原理：

利用 80%乙醇可以把样品中可溶性糖与淀粉分开，利用双波长比色法测定支链淀粉含量。

需自备的仪器和用品：

酶标仪/可见分光光度计、水浴锅、可调式移液器、96 孔板/微量石英比色皿、研钵、冰、乙醚和蒸馏水。

试剂的组成和配制：

试剂一：液体 100mL×1 瓶；4℃保存；

试剂二：乙醚 100mL×1 瓶；4℃保存；(自备)

试剂三：液体 100mL×1 瓶；4℃保存；

试剂四：液体 2mL×1 瓶；4℃保存；

试剂五：液体 300uL×1 瓶；4℃保存；

淀粉提取：

称取 0.01~0.02g 烘干样本（建议称取约 0.01g）于研钵中研碎，加入 1mL 试剂一，充分匀浆后转移到 EP 管中，80℃水浴提取 30min，3000g，25℃离心 5min，弃上清，留沉淀，加入 1mL 试剂二（乙醚）振荡 5min，3000g，25℃离心 5min，弃上清，留沉淀，加入 1mL 试剂三充分溶解，90℃水浴 10min，冷却后待测。

测定步骤：

1、分光光度计或酶标仪预热 30min 以上，蒸馏水调零。

测定管：在 96 孔板或微量石英比色皿中依次加入 20uL 样本，14uL 试剂四，120uL 蒸馏水，2uL 试剂五，44uL 蒸馏水，混匀，分别测定 550 和 743nm 处吸光值， ΔA 测定=A550-A743。

空白管：在 96 孔板或微量石英比色皿中依次加入 20uL 试剂三，14uL 试剂四，120uL 蒸馏水，2uL 试剂五，44uL 蒸馏水，混匀，分别测定 550 和 743nm 处吸光值， ΔA 空白=A550-A743。

支链淀粉含量计算:

a. 用微量石英比色皿测定的计算公式如下

标准条件下测定的回归方程为 $y=0.1214x+0.0076$; x 为标准品浓度 (mg/mL), y 为吸光值。

1、按照蛋白浓度计算

支链淀粉含量(mg/mg prot)=[(ΔA 测定- ΔA 空白-0.0076) $\times V1$] $\div 0.1214 \div (V1 \times Cpr)=8.24 \times (\Delta A$ 测定- ΔA 空白-0.0076) $\div Cpr$

2、按样本干重计算

支链淀粉含量(mg/g 干重)=[(ΔA 测定- ΔA 空白-0.0076) $\times V1$] $\div 0.1214 \div (W \times V1 \div V2)=8.24 \times (\Delta A$ 测定- ΔA 空白-0.0076) $\div W$

$V1$: 加入反应体系中样本体积, 0.02mL; $V2$: 加入提取液体积, 1 mL; Cpr : 样本蛋白质浓度, mg/mL;

W : 样本质量, g

b. 用 96 孔板测定的计算公式如下

标准条件下测定的回归方程为 $y=0.0607x+0.0076$; x 为标准品浓度 (mg/mL), y 为吸光值。

1、按照蛋白浓度计算

支链淀粉含量(mg/mg prot)=[(ΔA 测定- ΔA 空白-0.0076) $\times V1$] $\div 0.0607 \div (V1 \times Cpr)=16.47 \times (\Delta A$ 测定- ΔA 空白-0.0076) $\div Cpr$

2、按样本干重计算

支链淀粉含量(mg/g 干重)=[(ΔA 测定- ΔA 空白-0.0076) $\times V1$] $\div 0.0607 \div (W \times V1 \div V2)=16.47 \times (\Delta A$ 测定- ΔA 空白-0.0076) $\div W$

$V1$: 加入反应体系中样本体积, 0.02mL; $V2$: 加入提取液体积, 1 mL; Cpr : 样本蛋白质浓度, mg/mL;

W : 样本质量, g

最低检测限为 10mg/g 干重或 0.1mg/mgprot。