

## 支链淀粉含量试剂盒

(微量法 100T/96S)

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。

### 组成:

组分名称	SA018-100T/96S	Storage
试剂一: 液体	100ml	4°C
试剂二: 乙醚(自备)	100ml	4°C
试剂三: 液体	100ml	4°C
试剂四: 液体	2ml	4°C
试剂五: 液体	300ul	4°C
说明书	一份	

### 自备仪器和用品:

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。

### 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°C 水浴提取 30min, 3000g, 25°C 离心 5min, 弃上清, 留沉淀, 加入 1mL 试剂二 (乙醚) 振荡 5min, 3000g, 25°C 离心 5min, 弃上清, 留沉淀, 加入 1mL 试剂三充分溶解, 90°C 水浴 10min, 冷却后待测。

### 测定步骤:

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，  $\Delta A$  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，  $\Delta A$  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)=[ $(\Delta A$  测定- $\Delta A$  空白-0.0076) $\times V_1$ ] $\div 0.1214 \div (V_1 \times C_{pr})=8.24 \times (\Delta A$  测定- $\Delta A$  空白-0.0076)  $\div C_{pr}$

2、按样本干重计算

支链淀粉含量(mg/g 干重)= [ $(\Delta A$  测定- $\Delta A$  空白-0.0076) $\times V_1$ ] $\div 0.1214 \div (W \times V_1 \div V_2)=8.24 \times (\Delta A$  测定- $\Delta A$  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)=[ $(\Delta A$  测定- $\Delta A$  空白-0.0076) $\times V_1$ ] $\div 0.0607 \div (V_1 \times C_{pr})=16.47 \times (\Delta A$  测定- $\Delta A$  空白-0.0076)  $\div C_{pr}$

2、按样本干重计算

支链淀粉含量(mg/g 干重)= [ $(\Delta A$  测定- $\Delta A$  空白-0.0076) $\times V_1$ ] $\div 0.0607 \div (W \times V_1 \div V_2)=16.47 \times (\Delta A$  测定- $\Delta A$  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。**

