

## 直链淀粉含量试剂盒说明书

微量法 100管/96样

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：

直链淀粉是D-葡萄糖基以 $\alpha$ -(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。

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。

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；(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300 $\mu$ L×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，调节波长至620nm，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20 $\mu$ L样本，14 $\mu$ L试剂四，120 $\mu$ L蒸馏水，2 $\mu$ L试剂五，44 $\mu$ L蒸馏水，混匀，测定620nm处吸光值，记为A测定。

空白管：在96孔板或微量石英比色皿中依次加入20 $\mu$ L试剂三，14 $\mu$ L试剂四，120 $\mu$ L蒸馏水，2 $\mu$ L试剂五，44 $\mu$ L蒸馏水，混匀，测定620nm处吸光值，记为A空白。

直链淀粉含量计算：

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 $y=1.755x+0.0062$ ；x为标准品浓度（mg/mL），y为吸光值。

1、按照蛋白浓度计算

直链淀粉含量(mg/mg prot)=[(A测定-A空白-0.0062)×V1]÷1.755÷(V1×Cpr)=0.57×(A测定-A空白-0.0062)÷Cpr

2、按样本干重计算

直链淀粉含量(mg/g干重)=[(A测定-A空白-0.0062)×V1]÷1.755÷(W×V1÷V2)=0.57×(A测定-A空白-0.0062)÷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 $y=0.8775x+0.0062$ ; x为标准品浓度 (mg/mL), y为吸光值。

1、按照蛋白浓度计算

直链淀粉含量(mg/mg prot)=[(A测定-A空白-0.0062)×V1]÷0.8775 ÷(V1×Cpr)=1.14×(A测定-A空白-0.0062) ÷Cpr

2、按样本干重计算

直链淀粉含量(mg/g干重)= [(A测定-A空白-0.0062)×V1] ÷0.8775/(W×V1÷V2) =1.14×(A测定-A空白-0.0062) ÷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1mg/g干重或10 $\mu$ g/mgprot。**