

## 支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：

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°C保存；

试剂二：乙醚100mL×1瓶；4°C保存；(自备)

试剂三：液体100mL×1瓶；4°C保存；

试剂四：液体2mL×1瓶；4°C保存；

试剂五：液体300uL×1瓶；4°C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°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：

### 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， $\Delta A_{测定} = A_{550} - A_{743}$ 。

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， $\Delta A_{空白} = A_{550} - A_{743}$ 。

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) =  $[(\Delta A_{测定} - \Delta A_{空白} - 0.0076) \times V1] \div 0.1214 \div (V1 \times Cpr) = 8.24 \times (\Delta A_{测定} - \Delta A_{空白} - 0.0076) \div Cpr$

#### 2、按样本干重计算

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

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)=[ $(\Delta A_{\text{测定}}-\Delta A_{\text{空白}}-0.0076)\times V1$ ] $\div 0.0607 \div (V1\times Cpr)=16.47\times(\Delta A_{\text{测定}}-\Delta A_{\text{空白}}-0.0076) \div Cpr$

2、按样本干重计算

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

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。**