

直链淀粉检测试剂盒（微量法）

注意：正式测定之前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定。

测定意义：

直链淀粉是D-葡萄糖基以 α -(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。

试剂组成和配制：

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 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，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 μ L 样本，14 μ L 试剂四，120 μ L 蒸馏水，2 μ L 试剂五，44 μ 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 μ L 试剂三，14 μ L 试剂四，120 μ L 蒸馏水，2 μ L 试剂五，44 μ 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

$$\begin{aligned} \text{直链淀粉含量(mg/mg prot)} &= [(A \text{ 测定}-A \text{ 空白}-0.0062) \times V1] \div 1.755 \div (V1 \times Cpr) \\ &= 0.57 \times (A \text{ 测定}-A \text{ 空白}-0.0062) \div Cpr \end{aligned}$$

2、按样本干重计算

$$\begin{aligned} \text{直链淀粉含量(mg/g 干重)} &= [(A \text{ 测定}-A \text{ 空白}-0.0062) \times V1] \div 1.755 \div (W \times V1 \div V2) \\ &= 0.57 \times (A \text{ 测定}-A \text{ 空白}-0.0062) \div W \end{aligned}$$

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

$$\begin{aligned} \text{直链淀粉含量(mg/mg prot)} &= [(A \text{ 测定}-A \text{ 空白}-0.0062) \times V1] \div 0.8775 \div (V1 \times Cpr) \\ &= 1.14 \times (A \text{ 测定}-A \text{ 空白}-0.0062) \div Cpr \end{aligned}$$

2、按样本干重计算

$$\begin{aligned} \text{直链淀粉含量(mg/g 干重)} &= [(A \text{ 测定}-A \text{ 空白}-0.0062) \times V1] \div 0.8775 \div (W \times V1 \div V2) \\ &= 1.14 \times (A \text{ 测定}-A \text{ 空白}-0.0062) \div W \end{aligned}$$

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 μ g/mgprot.