

支链淀粉含量检测试剂盒（分光光度法）

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：

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。

试剂组成和配制：

试剂一：液体 50mL×1 瓶；4℃ 保存；

试剂二：乙醚 50mL×1 瓶；4℃ 保存；(自备)

试剂三：液体 50mL×1 瓶；4℃ 保存；

试剂四：液体 4mL×1 瓶；4℃ 保存；

试剂五：液体 1mL×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、分光光度计预热 30min 以上，蒸馏水调零。

测定管: 在 EP 管中依次加入 100uL 样本， 70uL 试剂四， 600uL 蒸馏水， 10uL 试剂五， 220uL 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 EP 管中依次加入 100uL 试剂三， 70uL 试剂四， 600uL 蒸馏水， 10uL 试剂五， 220uL 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:

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

$$\begin{aligned} \text{支链淀粉含量(mg/mg prot)} &= [(\Delta A \text{ 测定} - \Delta A \text{ 空白} - 0.0076) \times V1] \div 0.1214 \div (V1 \times Cpr) \\ &= 8.24 \times (\Delta A \text{ 测定} - \Delta A \text{ 空白} - 0.0076) \div Cpr \end{aligned}$$

2、按样本干重计算

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

V1: 加入反应体系中样本体积, 0.1mL;

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。