

支链淀粉含量试剂盒

比色法: 50 管/48 样

一、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。

二、需自备的仪器和用品:

可见分光光度计、水浴锅、可调式移液器、1ml 玻璃比色皿、研钵、冰、乙醚和蒸馏水。

三、试剂的组成和配制:

试剂一:液体 50ml×1 瓶; 4℃保存

试剂二: 乙醚 50ml×1 瓶; (自备)

试剂三:液体 50ml×1 瓶; 4℃保存

试剂四:液体 4ml×1 瓶; 4℃保存

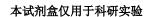
试剂五:液体 1ml×1 瓶; 4℃保存

四、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)振荡混匀 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。

五、测定步骤:

测定管: 在 EP 管中依次加入 100 μ | 样本,70 μ | 试剂四,600 μ | 蒸馏水,10 μ | 试剂五,220 μ | 蒸馏水,混匀,分别测定 550nm 和 743nm 处吸光值, \triangle A 测定=A550-A743。





空白管 在 EP 管中依次加入 100 μ I 试剂三,70 μ I 试剂四,600 μ I 蒸馏水,10 μ I 试剂五,220 μ I 蒸馏水,混匀,分别测定 550nm 和 743nm 处吸光值, \triangle A 空白=A550-A743。

六、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

支链淀粉含量(mg/mgprot)=[(△A 测定-△A 空白-0.0076)×V1]÷0.1214 ÷(V1×Cpr)=8.24×(△A 测定-△A 空白-0.0076) ÷Cpr

2、按样本干重计算

支链淀粉含量(mg/g 干重)= [(\triangle A 测定- \triangle A 空白-0.0076) \times V1] ÷0.1214÷(W \times V1÷V2)=8.24 \times (\triangle A 测定- \triangle A 空白-0.0076) ÷W

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