

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 l 样本，70 μ l 试剂四，600 μ l 蒸馏水，10 μ l 试剂五，220 μ l 蒸馏水，混匀，分别测定 550nm 和 743nm 处吸光值， ΔA 测定=A550-A743。

空白管: 在 EP 管中依次加入 100 μ l 试剂三, 70 μ l 试剂四, 600 μ l 蒸馏水, 10 μ l 试剂五, 220 μ l 蒸馏水, 混匀, 分别测定 550nm 和 743nm 处吸光值, ΔA 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)=[(ΔA 测定- ΔA 空白-0.0076) $\times V_1$] $\div$ 0.1214 $\div$ ($V_1 \times C_{pr}$)=8.24 $\times$ (ΔA 测定- ΔA 空白-0.0076) $\div C_{pr}$

2、按样本干重计算

支链淀粉含量(mg/g 干重)=[(ΔA 测定- ΔA 空白-0.0076) $\times V_1$] $\div$ 0.1214 $\div$ ($W \times V_1 \div V_2$)=8.24 $\times$ (ΔA 测定- ΔA 空白-0.0076) $\div W$

V_1 : 加入反应体系中样本体积, 0.1ml V_2 : 加入提取液体积, 1 ml

C_{pr} : 样本蛋白质浓度, mg/ml W : 样本质量, g