

上海茁彩生物科技有限公司
ZCIBIO Technology Co., Ltd



生化检测原理示意图

Cat. NO: ZC-S0985

Size: 50T/48S

支链淀粉含量检测试剂盒说明书

分光光度法

*正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

一、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。

二、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。三、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。

四、试剂的组成和配置：

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
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	

五、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。

六、测定步骤:

1、分光光度计预热 30min 以上, 蒸馏水调零。

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

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

七、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/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, 0.1mL; $V2$: 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。