

Branched/Straight chain/Total Amylum Content Assay Kit

支链-直链-总淀粉含量测定试剂盒(酶法) 微板法

产品编号	产品名称	规格
BL1799B	支链-直链-总淀粉含量测定试剂盒(酶法) 微板法	96T

产品简介:

常用直链淀粉测定方法有电位测定法、旋光分析法或碘与直链淀粉结合力的比色法,然而这些方法存在不确定性。因为支链淀粉-碘复合物在此过程中同样会形成,导致直链淀粉含量的高估,因此需要修正。

本试剂盒利用伴刀豆球蛋白 A 只与支链淀粉结合而不与直链淀粉结合的特性,使其分离,再用仅水解淀粉的酶复合物使淀粉水解为葡萄糖,通过检测葡萄糖含量得到直链、支链和总淀粉的含量。

产品组成:

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	100mL×1 瓶	4°C保存	试剂一稀释液: 30mL 试剂一+70mL 蒸馏水混匀。
试剂二	粉末×1 瓶	-20°C保存	使用前甩几下使试剂落入底部,再加 10.5mL 的试剂一稀释液溶解备用。
试剂三	120mL×1 瓶	4°C保存	
试剂四	粉末×1 瓶	-20°C保存	使用前甩几下使试剂落入底部,再加 11mL 的试剂三溶解备用。
试剂五	粉末×1 支	-20°C保存	使用前甩几下使试剂落入底部,再加 4.2mL 的蒸馏水溶解备用。
试剂六	28mL×1 瓶	4°C保存	
标准品	粉末×1 支	室温干燥保存	使用前准确称取 2mg 粉体即葡萄糖至一新离心管中,再加 2mL 试剂三充分溶解即得 1mg/mL 标准品,待用。(该标准品粉体开封后也需干燥保存和使用)
质控品	粉末×1 支	室温干燥保存	质控品为含 68%直链淀粉的淀粉物质,用于鉴定整个操作过程是否正确以及试剂是否正常。

使用方法:

一、样本准备

1. 待检测液制备:

- 取 1-5g 样本烘干(50°C)至恒重,磨碎并过筛(如 0.5mm 筛)得到待检均匀粉末样本;取 10mg 粉末样本或 10mg 的质控品至 2mL 的离心管中,加入 0.5mL 的 DMSO 并涡旋振荡使样本分散悬浮于液体中(勿沉积于管底或块状悬浮)。
- 沸水浴直到样本呈分散溶解状态(约 2min,确保没有凝胶块状);高速涡旋振荡后再沸水浴 15min(间歇 2-3min 振荡一次,使样本全部分散溶解,若凝胶块仍存在,可增加沸水浴时间和振荡次数直到凝胶块完全溶解);
- 样本取出置室温约 5min 使样本冷却后再加 1mL 无水乙醇立即高速涡旋振荡,避免聚合(建议逐个样本操作),再加 0.5mL 无水乙醇来回颠倒离心管,静置 5min(有淀粉白色沉淀物产生),5000rpm 室温离心 5min,弃上清留沉淀(使离心管轻轻倒置于吸水纸上约 5min 吸干剩余乙醇);
- 向沉淀中加 1mL DMSO 涡旋振荡混匀,沸水浴 15min(间歇 2-3min 振荡一次,使样本全部分散)

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.

注意:在体外研究使用,不用于诊断或治疗用途,本产品不是医疗装置。



溶解，确保没有凝胶块，若凝胶块最终难完全溶解需弃掉重新制备）；

- (e) 若是谷物样本，在(d)步得到的溶液中有杂质，需待自然冷却 5min 后于 3000rpm 室温（25°C，低于 10°C 会结冻）离心 5min，上清液备用；若是纯淀粉样本，在(d)步得到的溶液呈澄清状，不需离心自然冷却 5min 备用；取出 0.1mL 澄清备用液于新 2mL 的离心管中，再加 0.9mL 试剂一稀释液即为待检测液，即稀释 10 倍（该待检测液测定务必在 2 个小时内进行后面的实验）。

【注】：若样本自身淀粉含量较低，可降低稀释倍数，如稀释 2-5 倍。

2. 上清液制备:

- (a) 直链淀粉上清液制备：在离心管中依次加入：

试剂名称 (μL)	直链淀粉测定管
待检液	200
试剂二	100
反复颠倒混匀(不能涡旋)几下，静置 1 小时，然后 14000rpm 室温 (25°C) 离心 10min，取上清液 I 待测。	
40°C 温育上清液 I 30min	
上清液 I	75
试剂三	175
95-100°C 煮沸 5min 后，40°C 温育 5min， 观察：有沉淀产生	
试剂四	50
混匀，40°C 温育 30min 后，8000rpm 室温离心 5min，上清液待测	

- (b) 总淀粉上清液制备：在离心管中依次加入：

试剂名称 (μL)	总淀粉测定管
待检液	40
试剂三	300
试剂四	50
40°C 温育 30min 后，得到混合液待测（即总淀粉上清液）	

二、样品测定

- 酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 510nm。
- 显色反应，在 96 孔板中依次加入：

试剂名称 (μL)	直链淀粉测定管	总淀粉测定管	空白管 (仅做一次)	标准管 (仅做一次)
液体	60μL 直链淀粉上清液	60μL 总淀粉上清液	60μL 试剂三	40μL 标准品 + 360μL 试剂三 (现配现用)，取出 60μL
试剂五	20	20	20	20
试剂六	140	140	140	140
混匀，40°C 下，避光温育 20min，于 510nm 处读取吸光值 A。				

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.
注意：在体外研究使用，不用于诊断或治疗用途，本产品不是医疗装置。



三、结果计算

直链淀粉含量(mg/g 干重)=(C 标准×V2)×(A 直链淀粉-A 空白)÷(A 标准-A 空白)÷(W×V1 直链
÷V)×D×20

=6×(A 直链淀粉-A 空白)÷(A 标准-A 空白)÷W

总淀粉含量(mg/g 干重)=(C 标准×V2)×(A 总淀粉-A 空白)÷(A 标准-A 空白)÷(W×V1 总淀粉
÷V)×D×6.5

=9.75×(A 总淀粉-A 空白)÷(A 标准-A 空白)÷W

直链淀粉含量(%)=(A 直链淀粉-A 空白)÷(A 总淀粉-A 空白)×61.54

支链淀粉(%)=1-直链淀粉含量(%)

V---定容后待检液总体积, 1 mL

V1 总淀粉---待检液体积, 0.04mL

D---稀释 10 倍

W---样本质量, g

9.75---总淀粉的稀释倍数

V1 直链淀粉---待检液体积, 0.2mL

V2---显色反应中标品体积, 0.16mL

C 标准---0.1mg/mL 葡萄糖

6---直链淀粉的稀释倍数

61.54---6 除以 9.75

注意事项:

1. 质控品测出来的值应为 68%±2%，说明整个样本制备过程（待检液制备、上清液制备）及检测过程（即试剂盒试剂体系）都正确，否则重新操作。
2. 质控品值不在 68%±2%之间，但标准管显色，说明试剂盒反应试剂无问题。
3. 质控品测出值正常，但样本检测值有偏差，建议对检测步骤和样本制备过程进行核查。
4. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。
5. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期:

-20°C保存六个月。

