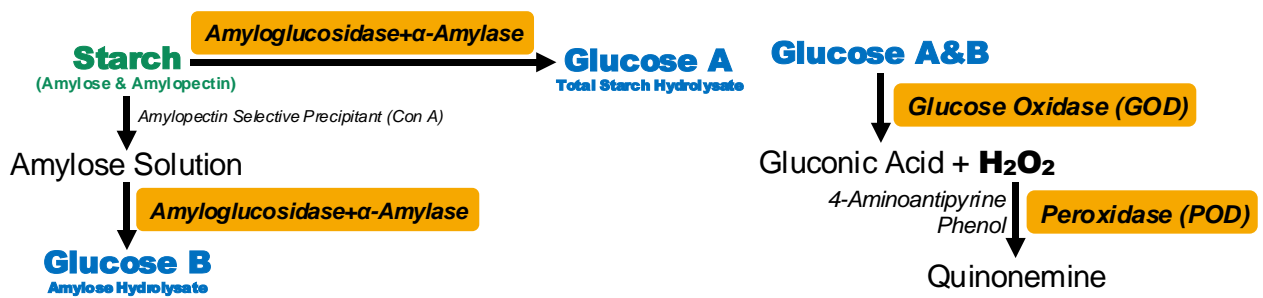




支链-直链-总淀粉含量检测试剂盒

Amylopectin-Amylose-Total Starch Content Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



支链-直链-总淀粉含量检测试剂盒

Amylopectin-Amylose-Total Starch Content Assay Kit

一、产品描述

淀粉由直链淀粉（Amylose）和支链淀粉（Amylopectin）组成，直链淀粉是一种线性分子，由葡萄糖单元通过 α -1,4 糖苷键连接而成，通常具有较高的溶解性和较低的粘度，支链淀粉则是一种高度分支的多糖，由葡萄糖单元通过 α -1,4 和 α -1,6 糖苷键连接而成，具有较高的粘度和较低的溶解性。淀粉中直链淀粉和支链淀粉的含量和比例对淀粉产品的加工、物化特性和糊化温度等有着直接影响，对食品营养价值评价、淀粉的合理利用和农业育种等具有重要意义。

通过复合淀粉水解酶能够将样本中淀粉水解为葡萄糖，即为总淀粉水解液；利用选择性沉淀剂去除样本中的支链淀粉即可获得直链淀粉，将直链淀粉通过复合淀粉水解酶水解生成葡萄糖，即为直链淀粉水解液；使用 GOD-POD 法分别测定总淀粉水解液和直链淀粉水解液中葡萄糖的生成量，即可定量检测直链、支链和总淀粉的含量。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用说明及注意事项
提取液	液体 85 mL×1 瓶	RT 保存	若出现凝固状态属于正常现象 (30-35°C加热溶解后使用即可)
试剂一	液体 25 mL×1 瓶	4°C保存	使用前按试剂一：蒸馏水=3:7 体积比配制 (根据使用量现用现配，即为试剂一工作液)
试剂二	粉剂×1 瓶	-20°C保存	使用前加入 6 mL 试剂一工作液充分溶解 (分装后-20°C可保存 2 周，避免反复冻融)
试剂三	液体 50 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂四	液体 100 μ L×1 支	4°C保存	-
试剂五	液体 50 μ L×1 支	4°C保存	若出现浑浊属于正常现象 (充分混匀后使用即可)
试剂六	液体 25 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂七	液体 25 mL×1 瓶	4°C保存	-
标准品	粉剂×1 支 (10 mg 葡萄糖标准品)	4°C保存	使用前加入 1 mL 蒸馏水充分溶解 (即为 10 mg/mL 葡萄糖标准液)
标准稀释液的制备（现用现配）： 使用前将 10 mg/mL 葡萄糖标准液使用蒸馏水稀释至 0.2、0.1、0.08、0.04、0.02、0.01 mg/mL 即为标准稀释液。			

需自备试剂：无水乙醇（C₂H₆O，MW=46.07，CAS:64-17-5）

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.

Not for further distribution without written consent. Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

序号	A	1	2	3	4	5	6
稀释前浓度 (mg/mL)	10	1.0	1.0	1.0	0.08	0.04	0.02
标准液体积 (μL)	100	200	100	80	500	500	500
蒸馏水体积 (μL)	900	800	900	920	500	500	500
稀释后浓度 (mg/mL)	1.0	0.2	0.1	0.08	0.04	0.02	0.01

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：酶标仪、96孔板、研钵/组织研磨仪、30-50目筛、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱、2 mL 螺纹盖离心管或冻存管、无水乙醇和蒸馏水。

1. 样本处理（可根据预实验结果适当调整样本量及比例）

①新鲜样本自然风干或 37°C 烘箱风干，研磨或粉碎后过 30-50 目筛；

②称取 20 mg 风干过筛后样本至 2 mL 离心管中，加入 1 mL 提取液充分振荡混匀，沸水浴处理 1 min，确保底部无凝胶状沉淀存在即可；

③使用漩涡混匀仪将样本高速振荡混匀后，沸水浴处理 15 min（期间振荡混匀 2-3 次），冷却至室温，即为淀粉混合液；

④吸取 200 μL 淀粉混合液至新的 2 mL 离心管中，加入 400 μL 95% (v/v) 乙醇充分振荡混匀后，再加入 1 mL 95% (v/v) 乙醇充分振荡混匀，室温静置 15 min；

⑤5000 g 常温离心 5 min，弃全部上清液，留沉淀，开盖室温放置挥发 10 min，使残留乙醇完全挥发，沉淀用于后续测定直链淀粉和总淀粉含量；

⑥沉淀中加入 400 μL 提取液，缓慢吹打混匀使沉淀完全溶解，沸水浴处理 15 min（期间振荡混匀 2-3 次），冷却至室温；

⑦5000 g 常温离心 5 min，吸取 100 μL 上清液至新的 2 mL 离心管中，加入 1.15 mL 试剂一工作液，充分振荡混匀即为待测样本（待测样本 4°C 可保存 1 周，切勿 -20°C 保存）。

注：沸水浴处理过程中有离心管崩开风险，注意密封以防止水分散失，推荐使用 2 mL 螺纹盖离心管或冻存管。

2.测定步骤

①酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 510 nm。

②**检测工作液的制备**：使用前根据使用量按**试剂三：试剂四：试剂五**=19:2:1 的体积比配制，充分混匀即为检测工作液，分装后-20℃可保存 2 周，避免反复冻融。

③**显色液的制备（现配现用）**：根据使用量按照**试剂六：试剂七**=1:1 的体积比配制。

④直链淀粉水解液的制备

试剂	测定管 1 (μL)
待测样本	200
试剂二	100
①缓慢颠倒混匀，室温静置 1 h；	
②15000 g 常温离心 10 min，取上清液；	
上清液	100
试剂三	300
①沸水浴处理 5 min，冷却至室温；	
②充分混匀，40℃处理 5 min；	
检测工作液	10
①充分混匀，40℃处理 30 min；	
②5000 g 常温离心 5 min，取上清液 即为直链淀粉水解液	

⑤总淀粉水解液的制备

试剂	测定管 2 (μL)
待测样本	50
试剂三	400
充分混匀，40℃处理 5 min	
检测工作液	10
①充分混匀，40℃处理 10 min；	
②5000 g 常温离心 5 min，取上清液 即为总淀粉水解液	

⑥ GOD-POD 法测定葡萄糖生成量

试剂	测定管 1 (μL)	测定管 2 (μL)	标准管 (μL)	空白管 (μL)
直链淀粉水解液	100	-	-	-
总淀粉水解液	-	100	-	-
标准稀释液	-	-	100	-
试剂三	-	-	-	100
显色液	400	400	400	400

充分混匀，40°C 反应 20 min，冷却至室温

吸光值测定：吸取 200 μL 反应液至 96 孔板中，测定 510 nm 处吸光值，记为 A1 测定、A2 测定、A 标准和 A 空白；计算 $\Delta A1 \text{ 测定} = A1 \text{ 测定} - A \text{ 空白}$ ， $\Delta A2 \text{ 测定} = A2 \text{ 测定} - A \text{ 空白}$ ， $\Delta A \text{ 标准} = A \text{ 标准} - A \text{ 空白}$ 。注：标准管和空白管只需测定 1-2 次。

标准曲线的建立：以 0.2、0.1、0.08、0.04、0.02、0.01 mg/mL 为横坐标 (x)，以其对应的 ΔA 标准为纵坐标 (y)，绘制标准曲线，得到标准方程 $y=kx+b$ ，将 $\Delta A1$ 测定带入公式中得到 x_1 (mg/mL)，将 $\Delta A2$ 测定带入公式中得到 x_2 (mg/mL)。

3. 支链-直链-总淀粉含量计算

$$\text{① 直链淀粉含量 (mg/g)} = \frac{x_1 \times V_1 \times V_2}{V_3 \times V_4} \times \frac{V_{\text{样总}} \times V_{\text{沉淀}} \times V_{\text{提取}}}{V_{\text{上清}} \times V_{\text{淀粉混合液}}} \times 0.9 \times D = \frac{138.375 \times x_1 \times D}{W}$$

$$\text{② 总淀粉含量 (mg/g)} = \frac{x_2 \times V_5}{V_6} \times \frac{V_{\text{样总}} \times V_{\text{沉淀}} \times V_{\text{提取}}}{V_{\text{上清}} \times V_{\text{淀粉混合液}}} \times 0.9 \times D = \frac{207 \times x_2 \times D}{W}$$

$$\text{③ 支链淀粉含量 (mg/g)} = \text{总淀粉含量} - \text{直链淀粉含量}$$

注释： V_1 ：直链淀粉水解液总体积，0.41 mL； V_2 ：直链淀粉水解液制备过程中离心上清液总体积，0.3 mL； V_3 ：直链淀粉水解液制备过程中吸取上清液的体积，0.1 mL； V_4 ：直链淀粉水解液制备过程中加入待测样本的体积，0.2 mL； V_5 ：总淀粉水解液总体积，0.46 mL； V_6 ：总淀粉水解液制备过程中加入待测样本的体积，0.05 mL； $V_{\text{样总}}$ ：待测样本总体积，1.25 mL； $V_{\text{沉淀}}$ ：待测样本制备过程中第⑥步沉淀复溶后的体积，0.4 mL； $V_{\text{提取}}$ ：待测样本制备过程中第①步加入提取液的体积，1 mL； $V_{\text{上清}}$ ：待测样本制备过程中第⑦步吸取上清液的体积，0.1 mL； $V_{\text{淀粉混合液}}$ ：待测样本制备过程中第④步吸取淀粉混合液的体积，0.2 mL；0.9：葡萄糖含量换算为淀粉含量的常数；W：样本质量，g；D：直链淀粉水解液或总淀粉水解液稀释倍数，若未稀释则为 1。

Notes:

四、注意事项

- ①提取液具有一定刺激性，建议在通风橱中进行操作，并做好相应防护；
- ②若 $\Delta A1$ 测定或 $\Delta A2$ 测定大于 0.8，建议将直链淀粉水解液或总淀粉水解液使用蒸馏水适当稀释后再进行测定，计算时乘以相应稀释倍数；
- ③沸水浴处理过程中有离心管崩开风险，注意密封以防止水分散失，推荐使用 2 mL 螺纹盖离心管或冻存管；
- ④前处理步骤中有多个离心后收集沉淀步骤，建议使用移液器缓慢去除上清液，切勿倾倒去除，避免沉淀损失影响结果；
- ⑤为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.
Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

