（本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断！）

产品货号：E-BC-K1200-M

产品规格：48T(32 samples)/96T(80 samples)

检测仪器：酶标仪(检测波长 600 nm，参比波长 460 nm)

Elabscience®直链淀粉比色法测试盒

Amylose Colorimetric Assay Kit

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

电话：400-999-2100

邮箱：biochemical@elabscience.cn

网址：www.elabscience.cn

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。

联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

用途

本测试盒适用于检测植物组织中直链淀粉的含量。

检测原理

直链淀粉可以与显色成分结合在 600 nm 处有最大吸收，使用双波长法可以较为准确的测定直链淀粉的含量。

提供试剂和物品

编号	名称	规格 (Size)(48 T)	规格 (Size)(96 T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	提取液 A (Extracting Solution A)	50 mL×1 瓶	50 mL×2 瓶	2-8°C 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	提取液 B (Extracting Solution B)	50 mL×1 瓶	50 mL×2 瓶	2-8°C 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	糖化剂 (Saccharifying Reagent)	55 mL×1 瓶	55 mL×2 瓶	2-8°C 保存 6 个月
试剂四 (Reagent 4)	显色剂 A (Chromogenic Agent A)	1 mL×1 支	2 mL×1 瓶	2-8°C 保存 6 个月
试剂五 (Reagent 5)	显色剂 B (Chromogenic Agent B)	1.2 mL×1 支	1.2 mL×2 支	2-8°C避光 保存 6 个月
试剂六 (Reagent 6)	标准品 （Standard）	粉剂×1 支	粉剂×1 支	2-8°C 保存 6 个月
	96 孔酶标板	48 孔×1 块	96 孔×1 块	无要求
	96 孔覆膜	2 张		
	样本位置标记表	1 张		

说明：试剂严格按上表中的保存条件保存，不同测试盒中的试剂不能混用。对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。对于粉剂，使用前请先离心，以免造成损失。

所需自备物品

仪器：酶标仪（检测波长 600 nm，参比波长 460 nm），水浴锅，涡旋混匀仪

试剂：超纯水

试剂准备

① 试剂盒使用前，所有试剂平衡至25°C。

② 显色工作液的配制：

将试剂四：试剂五按体积比= 1:1配制，现配现用。

③ 10 mg/mL标准品的配制：

取一支试剂六，加入1000 μL试剂三，充分混匀，在90°C水浴10 min，冷却后充分混匀使用，未用完部分2-8°C保存2周。

④ 1 mg/mL标准品的配制：

取100 μL的10 mg/mL标准品，加入900 μL试剂三，充分混匀，未用完部分2-8°C保存3天。

⑤ 不同浓度标准品的稀释：

编号	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧
标准品浓度 (mg/mL)	**0**	**0.1**	**0.2**	**0.4**	**0.5**	**0.7**	**0.8**	**1.0**
1 mg/mL 标准品 (μL)	0	20	40	80	100	140	160	200
试剂三(μL)	200	180	160	120	100	60	40	0

样本准备

① 样本处理

将烘干样本(80°C烘干至恒重，两次称量之差不超过 1 mg)充分研碎，称取 10 mg 样本，加入 1 mL 试剂一，机械匀浆后，80°C水浴 30 min，流水冷却。5000 × g，25°C离心 5 min，弃上清，保留沉淀，加入 1 mL 试剂二，震荡混匀 5 min 。5000 × g，25°C离心 5 min，弃上清，保留沉淀，加入 1 mL 试剂三，充分混匀，90°C水浴 10 min 进行糖化，流水冷却后待测。

③ 样本的稀释

在正式检测前，需选择2-3个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验，根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围：0.07-1 mg/mL，参考下表进行稀释(仅供参考)：

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
10% 土豆组织	2-8	10% 稻米组织	2-8
10% 玉米组织	2-8	10% 食用淀粉（商品）	2-10

注：稀释液为试剂三。

实验关键点

① 一次检测的样本数量控制在 20 个孔以内。

② 若观察到样本或标准品仍有沉淀，可以适当延长糖化时间(90°C水浴时间)，以确保充分糖化，以免影响检测结果。

③ 实验过程中涉及到长时间高温水浴，可能造成体系体积损失，请确保容器密封良好。若有损失根据加热前加入的试剂，补充到 1 mL。

操作步骤

① 标准孔：取 50 μL 不同浓度标准品，加到对应的标准孔中。

测定孔：取 50 μL 待测样本，加到对应的测定孔中。

② 向①中标准孔、测定孔加入 20 μL 显色工作液。

③ 向②中标准孔、测定孔加入 180 μL 超纯水。

④ 振板混匀后，酶标仪于 600 nm 波长检测各孔 OD 值，记为 A_1。酶标仪于 460 nm 波长检测各孔 OD 值，记为 A_2，计算 $\Delta A=A_1 - A_2$。

操作表

	标准孔	测定孔
不同标准品（μL）	50	--
样本（μL）	--	50
显色工作液（μL）	20	20
超纯水（μL）	180	180
振板混匀后，酶标仪于 600 nm 波长检测各孔 OD 值，记为 A_1。酶标仪于 460 nm 波长检测各孔 OD 值，记为 A_2，计算 $\Delta A = A_1-A_2$。		

结果计算

标准品拟合曲线：y = ax + b

组织样本：

$$\text{直链淀粉含量（mg/g）} = \left(\Delta A_{测定} - \Delta A_{空白} - b\right) \div a \times V \times f \div m$$

注解：

y：标准品ΔA -空白ΔA (标准品浓度为 0 时的ΔA)，$\Delta A = A_1 - A_2$

x：标准品的浓度

b：标准曲线的截距

a：标准曲线的斜率

$\Delta A_{测定}$：$\Delta A_{测定} = A_1 - A_2$

V：样本处理过程中加入试剂三的体积，单位 mL，建议取 1 mL

m：称取样本的质量，单位 g，建议取 0.01 g

f：样本加入检测体系前的稀释倍数

附录1 关键数据

1. 技术参数

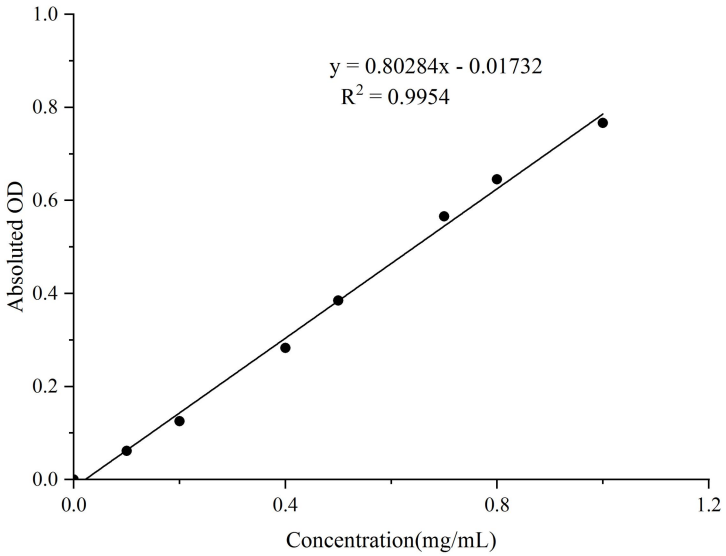
检测范围	0.07-1 mg/mL	批间差	5.2-7.3%
灵敏度	0.02 mg/mL	批内差	2.6-6.1%
加标回收率	95-101%		

2. 标准曲线（数据仅供参考）

① 不同浓度标准品加样量50 μL，按照操作步骤进行实验，OD值如下表所示：

标准品浓度 (mg/mL)	0	0.1	0.2	0.4	0.5	0.7	0.8	1.0
A_1值	0.038	0.210	0.358	0.658	0.849	1.180	1.294	1.550
	0.042	0.211	0.361	0.679	0.830	1.181	1.331	1.579
平均 A_1值	0.040	0.211	0.360	0.669	0.840	1.181	1.313	1.565
A_2值	0.070	0.184	0.269	0.413	0.493	0.664	0.701	0.826
	0.080	0.184	0.269	0.428	0.486	0.636	0.704	0.840
平均 A_2值	0.075	0.184	0.269	0.421	0.490	0.650	0.703	0.833
平均 A_1-A_2值	-0.035	0.027	0.091	0.248	0.350	0.531	0.610	0.732
绝对ΔA 值	0.000	0.062	0.126	0.283	0.385	0.566	0.645	0.767

② 绘制标曲 (如下图):


y = 0.80284x - 0.01732
R2 = 0.9954
Absoluted OD
Concentration(mg/mL)
0.0
0.2
0.4
0.6
0.8
1.0
0.0
0.4
0.8
1.2

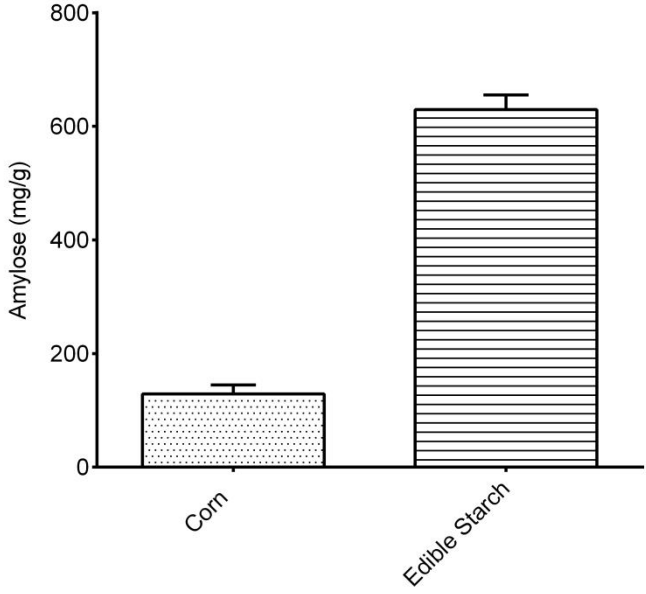
附录2 实例分析

例如检测组织 (数据仅供参考):

将烘干的玉米样本充分研碎，按说明书操作制备样本，用试剂三将待测样本稀释 8 倍后，取 50 μL 加入到酶标板孔中，结果如下：直链淀粉标准曲线：y = 0.80284x - 0.01732，测定孔 A_1 值为 0.515，A_2 值为 0.434 ，空白孔 A_1 值为 0.055，A_2 值为 0.090，计算结果为：

$$\text{直链淀粉含量（mg/g）} = (0.515 - 0.434 - (0.055 - 0.090) + 0.01732) \div 0.80284 \times 1 \times 8 \div 0.01 = 132.84\ \text{mg/g}$$

按照说明书操作，测定玉米组织（稀释8倍，加样量50 μL）、商品化食用淀粉（稀释10倍，加样量50 μL）中直链淀粉含量（如下图）：



附录3 问题答疑

问题	可能原因	建议解决方案
样本的OD值过低或检测不出	稀释倍数过高	降低稀释倍数
	样本浓度过低	增大称取的样本质量
	检测体系褪色	及时上机检测并避免一次性检测大量样本
检测结果过高	样本浓度太高	选择合适的稀释倍数

声明

1. 试剂盒仅供研究使用，如将其用于临床诊断或任何其他用途，我公司将不对因此产生的问题负责，亦不承担任何法律责任。
2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器，严格按照说明书进行实验。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围。如果样品中待测物浓度过高或过低，请对样本做适当的稀释或浓缩。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中，建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责，不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责，使用前请充分考虑样本可能的使用量，预留充足的样本。