

(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-K1201-M**

**产品规格：48T(32 samples)/96T(80 samples)**

**检测仪器：酶标仪(检测波长 530 nm，参比波长 710 nm)**

## **Elabscience®支链淀粉比色法测试盒**

### **Amylopectin 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](mailto:biochemical@elabscience.cn)

网址：[www.elabscience.cn](http://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支链淀粉的含量。

## 检测原理

支链淀粉可以与显色成分结合在 530 nm 处有最大吸收, 使用双波长法可以较为准确的测定支链淀粉的含量。

## 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	1 板		
	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 530 nm，参比波长 710 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℃。

② 显色工作液的配制：

将试剂四：试剂五按体积比= 1：2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℃水浴10 min，冷却后充分混匀使用，未用完部分2-8℃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℃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, 常规匀浆, 80°C 水浴 30 min, 冷水冷却。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, 冷水冷却后待测。

### ② 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: 0.012-1 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
土豆	2-8	稻米	2-8
玉米	2-8	食用淀粉(商品)	2-8

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  $\mu\text{L}$  不同浓度标准品，加到对应的标准孔中。  
测定孔：取 50  $\mu\text{L}$  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 30  $\mu\text{L}$  显色工作液。
- ③ 向②中标准孔、测定孔加入 170  $\mu\text{L}$  超纯水。
- ④ 振板混匀后，酶标仪于 530 nm 波长检测各孔 OD 值，记为  $A_1$ 。酶标仪于 710 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
不同浓度标准品 ( $\mu\text{L}$ )	50	--
样本 ( $\mu\text{L}$ )	--	50
显色工作液 ( $\mu\text{L}$ )	30	30
超纯水 ( $\mu\text{L}$ )	170	170
振板混匀后，酶标仪于 530 nm 波长检测各孔 OD 值，记为 $A_1$ 。酶标仪于 710 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：

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

注解：

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

x: 标准品的浓度

b: 标准曲线的截距

a: 标准曲线的斜率

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

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

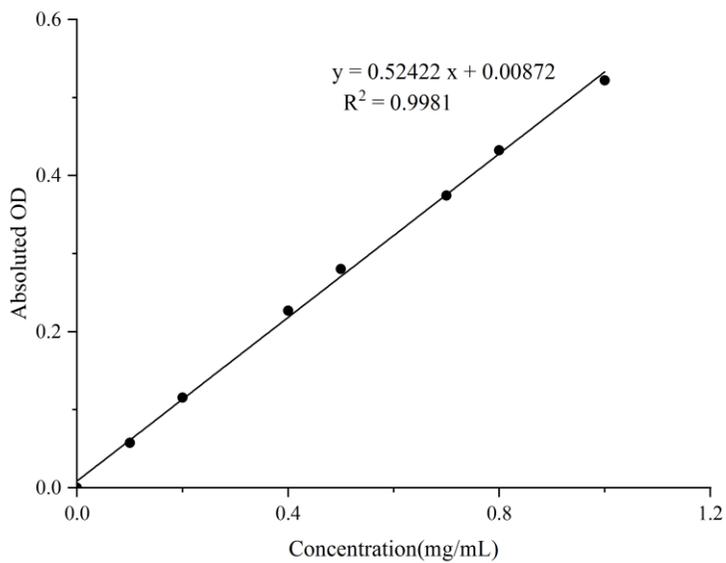
检测范围	0.012-1 mg/mL	批间差	6.6-7.2%
灵敏度	0.012 mg/mL	批内差	1.8-3.6%
加标回收率	101-104%		

### 2. 标准曲线（数据仅供参考）

① 不同浓度标准品加样量50  $\mu$ L，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 <sub>1</sub> 值	0.067	0.141	0.219	0.359	0.428	0.550	0.620	0.733
	0.069	0.142	0.217	0.363	0.429	0.550	0.631	0.744
平均 A <sub>1</sub> 值	0.068	0.142	0.218	0.361	0.429	0.550	0.626	0.739
A <sub>2</sub> 值	0.037	0.056	0.073	0.105	0.119	0.149	0.164	0.185
	0.041	0.054	0.074	0.105	0.119	0.144	0.164	0.190
平均 A <sub>2</sub> 值	0.039	0.055	0.074	0.105	0.119	0.147	0.164	0.188
平均 A <sub>1</sub> - A <sub>2</sub> 值	0.029	0.087	0.145	0.256	0.310	0.404	0.462	0.551
绝对 OD 值	0.000	0.058	0.116	0.227	0.281	0.375	0.433	0.522

② 绘制标曲 (如下图):



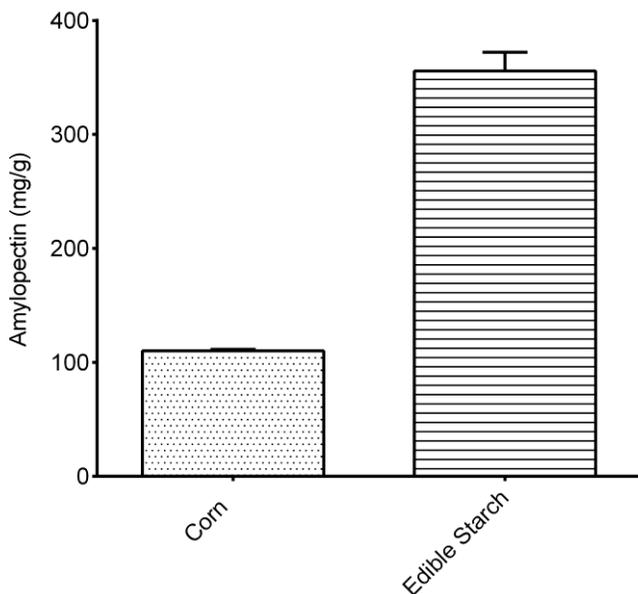
## 附录2 实例分析

例如检测玉米组织 (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  $\mu\text{L}$  加入到酶标板孔中, 按照操作表操作, 结果如下: 支链淀粉标准曲线:  $y = 0.52422x + 0.00872$ , 测定孔  $A_1$  值为 0.423,  $A_2$  值为 0.313, 空白孔  $A_1$  值为 0.068,  $A_2$  值为 0.039, 计算结果为:

$$\begin{aligned} \text{支链淀粉含量} &= (0.423 - 0.313 - (0.068 - 0.039) - 0.00872) \div 0.52422 \times 1 \times 8 \div 0.01 \\ & \quad (\text{mg/g}) \\ & = 110.30 \text{ mg/g} \end{aligned}$$

按照说明书操作, 测定玉米组织 (稀释8倍, 加样量50  $\mu\text{L}$ ), 商品化食用淀粉 (稀释4倍, 加样量50  $\mu\text{L}$ ) 中支链淀粉含量 (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。

