北京沃凯生物科技有限公司
全国免费电话:400-819-385
www.bjoka-vip.com
Tel:010-62971590. Fax:62340519
M-ail:postmaster@oka-vip.com

直链/支链淀粉含量试剂盒说明书

酶标法 96 样

一、产品说明

淀粉有直链淀粉和支链淀粉两类，直链淀粉无分支的螺旋结构，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。

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和直链淀粉。

二、需自备的仪器和用品

酶标仪、水浴锅、可调式移液器、96 孔板、研钵、乙醚和蒸馏水。

三、试剂的组成和配制

试剂名称	规格	保存温度	备注
试剂一	液体 100mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二	乙醚		自备
试剂三	液体 100mL×2 瓶	4℃保存	
试剂四	液体 5mL×1 瓶	4℃保存	
试剂五	液体 5mL×1 瓶	4℃保存	临用前将试剂五稀释 10 倍后再使用（取 0.5mL 试剂五加入 4.5mL 蒸馏水。注意避光；现配现用）

四、样本前处理

建议正式实验前取 2 个样本做预测定，了解本批样本含量情况，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费！

称取约 0.02g 干样于研钵中研碎，加入 1mL 试剂一，研磨后 3000g，25℃离心 5min，去上清，在沉淀中加入 1mL 试剂二（乙醚）振荡 5min，3000g，25℃离心 5min，弃上清，留沉淀，沉淀中加入 0.2mL 乙醇和 1.8mL 试剂三，沸水浴 10min，冷却后加入 3mL 蒸馏水离心取上清测定。

五、测定步骤

1、 酶标仪预热。

2、在 EP 管中**依次**加入下列试剂

试剂名称（μL）	测定管	空白管（只做一管）
上清液	100	
蒸馏水		100
试剂四	35	35
稀释后的试剂五	45	45
蒸馏水	250	250
混匀，取 300μL 反应液于 96 孔板中测定各管 451nm 、530nm、620nm、738nm 处吸光值 A，计算△A 直链=（A 测定 620-A 空白 620）-（A451 测定-A451 空白）；△A 支链=（（A 测定 530-A 空白 530）-（A 测定 738-A 空白 738））		

注意：1、若 A620 大于 0.9，需将上清液用稀释液稀释后重新测定

2、若 A530 大于 0.5，需将上清液用稀释液稀释后重新测定

稀释液的配置：0.2mL 无水乙醇+1.8mL 试剂三+3mL 蒸馏水，用多少配多少。

六、计算公式

标准曲线为 $y = 2.9468x + 0.0214$，$R^2 = 0.9975$；x 为标准品浓度（mg/mL），y 为△A

直链淀粉含量(mg/g)= [(△A 直链-0.0214)] ÷2.9468÷W×V1×稀释倍数

=1.697×(△A 直链-0.0214) ÷W

支链淀粉标准曲线为：y = 0.522x + 0.0139；R^2 = 0.9963；x 为标准品浓度（mg/mL），y 为△A

支链淀粉含量(mg/g)= [(△A 支链-0.0139)] ÷0.522÷W×V1×稀释倍数

=9.579×(△A 支链-0.0139) ÷W

V1：加入提取液体积，5 mL；W：样本质量，g

