DF100

淀粉检测试剂盒（100T）

一般描述

淀粉是高分子碳水化合物，是由葡萄糖分子聚合而成的多糖。其基本构成单位为Α-D-吡喃葡萄糖，本公司的淀粉测试盒仅使用单一工作试剂，将酶对淀粉的分解和葡萄糖的检测结合为一个步骤。反应产物的吸光强度(570nm) 或荧光强度($\lambda_{em/ex}$ = 585/530nm）与样本中的淀粉浓度成正比。检测范围：比色法2-200 μg/mL淀粉；荧光法0.2-20 μg/mL淀粉。

试剂盒组成与保存

缓冲液：12 mL -20°C保存

酶A：120 μL -20°C保存

酶B：120 μL -20°C保存

显色剂: 120 μL -20°C保存

标准品：50 μL 50 mg/mL -20°C保存

样品制备

可溶性淀粉：磨碎5-10mg样品，用1mL 90%乙醇洗去自由葡萄糖和小的低聚糖。经60℃旋转加热5分钟。在10,000转/分的离心机下离心2分钟。慢慢倒出上清液，重复清洗两次，洗净乙醇。加1 mL蒸馏水至淀粉颗粒，沸水浴中加热5分钟。在10,000转/分的离心机下离心2分钟。上清液是可溶性淀粉，抗性淀粉是不溶颗粒。吸出可溶性淀粉，对不溶颗粒加0.2 mL二甲亚砜，在沸水浴加热5分钟。测试前按1:100的比例用水稀释样品。

不溶性淀粉可用KOH/H_3PO_4 或KOH/acetate抽提。

比色法检测步骤

1．在检测前应将所有试剂置于室温。实验过程中将酶存放在冰箱里或冰上。

2． 标准液和样品：混合 5μL 标准液和 1245 μL 蒸馏水得到 200 μg/mL 预混液，按下表比例稀释标准品：

标号	预混液 + H_2O	终量	(μg/mL)
1	200 μL + 0 μL	200	200
2	150 μL + 50 μL	200	150
3	100 μL + 100 μL	200	100
4	50 μL + 150 μL	200	50
5	0 μL + 200 μL	200	0

取 10μL 稀释后的标准品和样品溶液加入 96 孔板。

DF100

3．反应试剂。 按照每孔需缓冲液 90 μL、酶 A 1 μL、酶 B 1 μL、显色剂 1 μL 的比例，配制足量反应试剂，并在每个标准品与样品孔中加入 90 μL 反应试剂，轻拍使其混合。

4．室温下培养 30 分钟，在 570nm 下读取 OD 值。

荧光法检测步骤

使用荧光测定法时，线性测量范围为0.2 - 20 μg/mL 淀粉。

按比色法制备的标准品步骤 1-3，稀释成为 0、5、10、15、20 μg/mL 标准液， 用黑色 96 孔板。在室温下反应 30 分钟，在λ_{em} = 585nm，λ_{ex} = 530nm 的条件下读取荧光值。

浓度计算：

用标准品的值 R 标准品 减去空白对照值 R 空白(OD570nm 或荧光值)，对标准品浓度作图得出斜率。样品的淀粉浓度计算如下：

$$\text{淀粉浓度} = \frac{R_{样品} - R_{空白}}{\text{斜率}} \quad (\mu g/mL)$$

R 样品 和 R 空白是样品或空白（标号 5）OD570nm 或荧光值。

备注

1. 该实验基于一种动力学反应，建议使用多通道移液器加工作试剂。
2. 干扰：含有巯基（-SH）的试剂（e.g. 二巯基苏糖醇，β-巯基乙醇）会干扰实验，样品制备过程中应避免巯基试剂。
3. 预防措施：本产品仅供研究用，使用过程中应严格遵循实验安全措施。