

淀粉含量试剂盒说明书

(货号: G0507W 微板法 96 样)

一、产品简介:

淀粉是一种多糖,广泛存在于植物的根、茎、叶、种子、果实等组织中。

本产品采用酸水解法,将淀粉分解为葡萄糖,再用蒽酮比色法测定葡萄糖的含量,即可换算淀粉含量,测定波长为620nm。

二、试剂盒组分与配制:

试剂名称	规格	保存要求
试剂一	液体 100mL×1 瓶	4℃保存
试剂二	粉剂×1 瓶	4℃保存
标准品	粉剂×1 支	若重新做标曲,则用到该试剂
工作液的配制:临用前在试剂二中加入 8.5mL 蒸馏水后,缓慢加入 21.5mL 浓硫酸,不断搅拌,充分溶解,待用;用不完的试剂 4℃保存一周。		

三、所需仪器和用品:

酶标仪、96 孔板、水浴锅、移液器、研钵、常温离心机、**浓盐酸、浓硫酸**、蒸馏水。

四、淀粉含量测定:

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

1、样本制备:

- 称取约 0.1g 组织样本于研钵中研碎,加入 1mL 试剂一,充分匀浆后转移到 EP 管中,50℃水浴提取 30min (间隔 3min 晃动几下),10000rpm,25℃离心 5min,弃上清,留沉淀。

【注】:若增加样本量,可按照组织质量(g):试剂一体积(mL)为 1:5~10 的比例进行提取

- 沉淀中加入 0.5mL 蒸馏水,放入 95℃水浴中糊化 15min (盖紧,以防止水分散失)。
- 冷却后,加入 0.35mL 浓盐酸,25℃常温提取 15min,振荡 3-5 次。
- 加入 0.85mL 蒸馏水,混匀,10000rpm,25℃离心 10min,取上清液待测。

2、上机检测:

- 酶标仪预热 30min,设置温度在 25℃,设定波长 620nm。
- 先调选 2 个样本做预测定,确定本次样本的稀释(用蒸馏水)倍数 D (如 10 倍)。
- 取 EP 管,按照加样表依次加入:

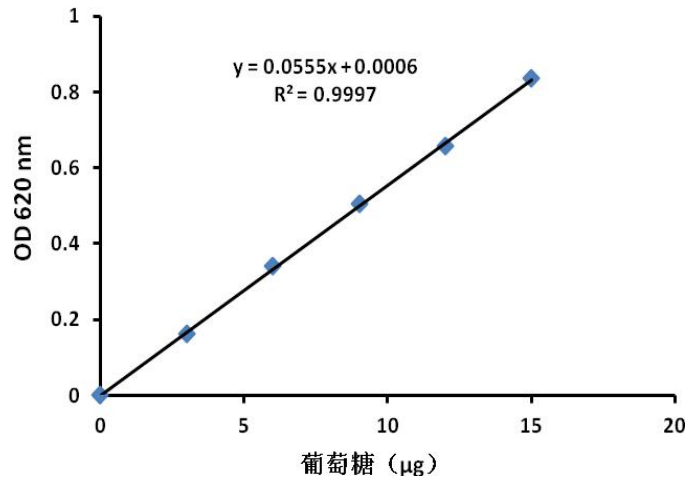
试剂名称 (μL)	测定管	空白管(仅做一次)
样本	50	
蒸馏水		50
工作液	250	250
混匀,95℃水浴 10 min (盖紧,防止水分散失),自然冷却至室温,取 200μL 转移至 96 孔板中,在 620 nm 处读取各管吸光度值 A, $\Delta A = A_{测定} - A_{空白}$ 。		

【注】:若吸光值大于 1,请将粗提液即样本用提取液或蒸馏水稀释后再测定,

计算公式中乘以相应的稀释倍数 D。

五、结果计算：

1、淀粉含量标准曲线： $y = 0.0555x + 0.0006$ ；x 为葡萄糖质量 (μg)，y 为 ΔA 。



2、淀粉含量($\mu\text{g/g}$ 鲜重) = $(\Delta A - 0.0006) \div 0.0555 \div (W \times V1 \div V) \times 0.9 \times D$
 $= 551.4 \times (\Delta A - 0.0006) \div W \times D$

V----加入提取液体积，1.7 mL；

V1----加入反应体系中样本体积，0.05mL；

W----样本质量，g；

0.9----葡萄糖折算淀粉的系数；

D----稀释倍数。

附：标准曲线制作过程：

- 1 制备标准品母液 (1mg/mL)：向标准品 EP 管里面加入 1mL 蒸馏水 (母液需在两天内用且-20℃保存)。
- 2 把母液稀释成以下浓度梯度的标准品：0, 0.06, 0.12, 0.18, 0.24, 0.3. mg/mL。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
- 3 依据加样表操作，根据结果即可制作标准曲线。