

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×2 瓶	4℃保存
标准品	粉剂×1 支	若重新做标曲, 则用到该试剂
工作液配制: 临用前在一瓶试剂二中加入 3.75mL 蒸馏水后, 缓慢加入 11.25mL 浓硫酸, 不断搅拌, 充分溶解 (可通过超声辅助加速溶解), 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、乙醇。

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:

1.1 组织样本:

- ① 称取约 0.1g 组织样本 (若是干样取 0.05g, 若是高淀粉干样取 0.01g 即可) 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。

- ② 沉淀中加入 0.5mL 蒸馏水后振荡混匀呈分散状, 放入 95℃水浴中糊化 15min (盖紧, 以防止水分散失) (若有凝胶状态的块状物, 糊化 15min 可适当延长至 20-30min 至凝胶块物质溶解)。

- ③ 冷却后, 加入 0.35mL 浓盐酸, 25℃常温提取 15min, 振荡 3-5 次。

- ④ 加入 0.85mL 蒸馏水, 混匀, 10000rpm, 25℃离心 10min, 取上清液待测。

1.2 液体样本:

- ① 取约 0.1mL 液体样本于 EP 管中, 加入 0.9mL 无水乙醇后来回颠倒 EP 管, 室温静置 5min, 10000rpm, 25℃离心 5min, 弃上清, 尽量留沉淀。再次向沉淀中加入 1mL 的 90%乙醇后振荡 5min (使沉淀分散开), 再室温静置 5min 后, 于 10000rpm, 25℃离心 5min, 弃上清, 留沉淀。

【注】: 若增加样本量, 可按照液体样本 (mL): 无水乙醇 (mL) 为 1: 9 的比例进行。

- ② 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)。

- ③ 冷却后, 加入 0.35mL 浓盐酸, 25℃常温提取 15min, 振荡 3-5 次。

- ④ 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:

- ① 打开酶标仪, 设定波长 620nm。

- ② 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)。

③ 取 EP 管，按照加样表依次加入：

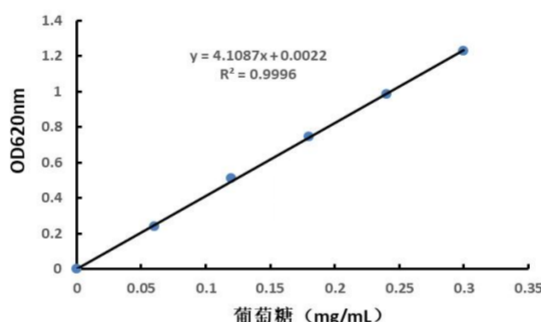
试剂名称 (μL)	测定管	空白管(仅做一次)
样本	50	
蒸馏水		50
工作液	250	250

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， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ 。

【注】：1. 若吸光值大于 1.5，请将粗提液即样本用提取液或蒸馏水稀释后再测定（严禁稀释加热反应后的混合液，否则会出现浑浊现象），计算公式中乘以相应的稀释倍数 D。

五、结果计算：

1、标准曲线： $y = 4.1087x + 0.0022$ ；x 为葡萄糖浓度（mg/mL），y 为 ΔA 。



2、按样本鲜重计算：

$$\text{淀粉含量(mg/g 重量)} = (\Delta A - 0.0022) \div 4.1087 \times V1 \div (W \times V1 \div V) \times 0.9 \times D$$

$$= 0.3724 \times (\Delta A - 0.0022) \div W \times D$$

$$\text{淀粉含量(\%)} = [(\Delta A - 0.0022) \div 4.1087 \times V1 \div (W \times V1 \div V) \times 0.9 \times D] \times 10^{-3} \times 100$$

$$= [0.3724 \times (\Delta A - 0.0022) \div W \times D] \%$$

3、按液体样本计算：

$$\text{淀粉含量(mg/mL)} = (\Delta A - 0.0022) \div 4.1087 \times V \div V2 \times 0.9 \times D = 3.724 \times (\Delta A - 0.0022) \times D$$

V---加入提取液体积，1.7 mL；

W---样本质量，g；

V2---液体样本取样量，0.1mL；

V1---加入反应体系中样本体积，0.05mL；

0.9---葡萄糖折算淀粉的系数；

D---稀释倍数，未稀释即为 1。

附：标准曲线制作过程：

- 1 制备标准品母液（1mg/mL）：从标准品管中称量取出 2mg 至一新 EP 管中，再加 2mL 蒸馏水混匀溶解即 1mg/mL 的葡萄糖（母液需在两天内用且-20℃保存）。
- 2 把母液用蒸馏水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。