

## 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°C保存
试剂二	粉剂×2 瓶	4°C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°C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°C水浴提取 30min(间隔 3min 晃动几下),10000rpm, 25°C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°C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°C常温提取 15min,振荡 3-5 次。

④ 加入 0.85mL 蒸馏水,混匀,10000rpm, 25°C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°C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°C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°C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°C常温提取 15min,振荡 3-5 次。

④ 加入 0.85mL 蒸馏水,混匀,10000rpm, 25°C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)。

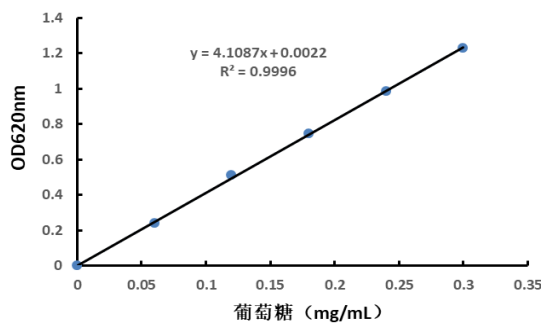
③ 取 EP 管，按照加样表依次加入：

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

## 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  $\Delta A$ 。



2、按样本鲜重计算：

$$\begin{aligned} \text{淀粉含量(mg/g 重量)} &= (\Delta A - 0.0022) \div 4.1087 \times V1 \div (W \times V1 \div V) \times 0.9 \times D \\ &= 0.3724 \times (\Delta A - 0.0022) \div W \times D \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{淀粉含量(\%)} &= [(\Delta A - 0.0022) \div 4.1087 \times V1 \div (W \times V1 \div V) \times 0.9 \times D] \times 10^{-3} \times 100 \\ &= [0.3724 \times (\Delta A - 0.0022) \div W \times D] \% \end{aligned}$$

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；

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；

V2---液体样本取样量，0.1mL；

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°C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。