

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
工作液的配制: 临用前在一瓶试剂二中加入 4.25mL 蒸馏水后, 缓慢加入 10.75mL 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 (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

- 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:

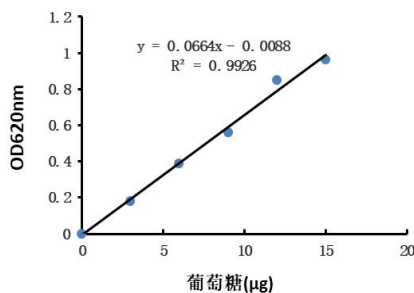
- 酶标仪预热 30min, 设置温度在 25℃, 设定波长 620nm。
- 先调选 2 个样本做预测定, 确定本次样本的稀释(用蒸馏水)倍数 D (如 10 倍)。
- 取 EP 管, 按照加样表依次加入:

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

【注】: 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、淀粉含量标准曲线： $y = 0.0664x - 0.0088$ ； x 为葡萄糖质量 (μg)， y 为 ΔA 。



2、淀粉含量($\mu\text{g/g}$ 重量) $= (\Delta A - 0.0006) \div 0.0664 \div (W \times V1 \div V) \times 0.9 \times D$

$$= 460.84 \times (\Delta A - 0.0006) \div W \times D$$

淀粉含量(mg/g 重量) $= (\Delta A - 0.0006) \div 0.0664 \div (W \times V1 \div V) \div 1000 \times 0.9 \times D$

$$= 0.46084 \times (\Delta A - 0.0006) \div W \times D$$

淀粉含量(%) $= [(\Delta A - 0.0006) \div 0.0664 \div (W \times V1 \div V) \div 1000 \times 0.9 \times D] \times 10^{-3} \times 100$

$$= [0.046084 \times (\Delta A - 0.0006) \div W \times D] \%$$

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，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。