

淀粉含量试剂盒说明书

(货号：ADS-W-DF001-50 微板法 48 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 50mL×1 瓶	4°C保存
试剂二	粉剂 1 瓶	4°C避光保存
标准品	粉剂 1 支	4°C保存，若重新做标曲，则用到该试剂
工作液配制：临用前在试剂二中加入 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，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。

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 酶标仪预热 30min，设置温度在 25°C，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)

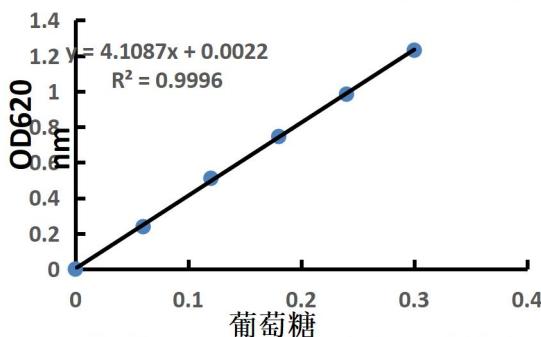
样本	50	
蒸馏水		50
工作液	250	250

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， $\Delta A = A - A_{\text{空白}}$ 。

【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：

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

$$\begin{aligned}\text{淀粉含量}(\%) &= [(\Delta A - 0.0022) \div 4.1087 \times V1 \div (W \times V1 \div V) \times 0.9 \times D] \times 10^{-3} \times 100 \\ &= [0.03724 \times (\Delta A - 0.0022) \div W \times D] \%\end{aligned}$$

3、按液体样本计算：

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

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。