

淀粉含量试剂盒说明书

(货号：ADS-W-DF001-50 微板法 48 样 有效期：9 个月)

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、指标测定：

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：

- 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。

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

- 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。

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

- 酶标仪预热 30min，设置温度在 25°C，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：

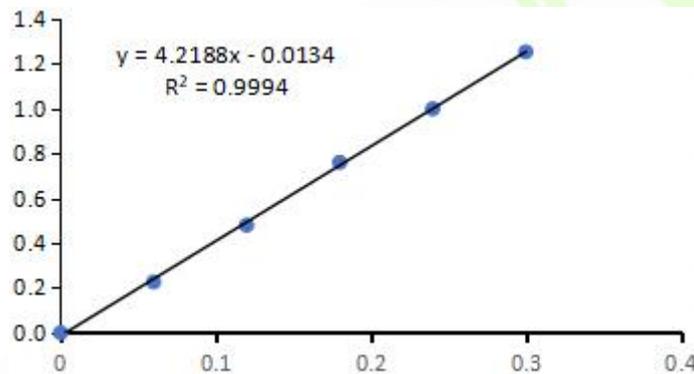
试剂名称 (μL)	测定管	空白管(仅做一次)
样本	50	
蒸馏水		50
工作液	250	250

混匀，95°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， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ 。

【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： $y = 4.2188x - 0.0134$ ；x 为葡萄糖浓度 (mg/mL)，y 为 ΔA 。



2、按样本鲜重计算：

$$\begin{aligned} \text{淀粉含量(mg/g 重量)} &= (\Delta A + 0.0134) \div 4.2188 \times V1 \div (W \times V1 \div V) \times 0.9 \times D \\ &= 0.3627 \times (\Delta A + 0.0134) \div W \times D \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{淀粉含量(\%)} &= [(\Delta A + 0.0134) \div 4.2188 \times V1 \div (W \times V1 \div V) \times 0.9 \times D] \times 10^{-3} \times 100 \\ &= [0.03627 \times (\Delta A + 0.0134) \div W \times D] \% \end{aligned}$$

3、按蛋白浓度计算：

$$\begin{aligned} \text{淀粉含量(mg/mg prot)} &= (\Delta A + 0.0134) \div 4.2188 \times V1 \div (Cpr \times V1 \div V) \times 0.9 \times D \\ &= 0.3627 \times (\Delta A + 0.0134) \div Cpr \times D \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{淀粉含量(\%)} &= [(\Delta A + 0.0134) \div 4.2188 \times V1 \div (Cpr \times V1 \div V) \times 0.9 \times D] \times 10^{-3} \times 100 \\ &= [0.03627 \times (\Delta A + 0.0134) \div Cpr \times D] \% \end{aligned}$$

4、按液体样本计算：

$$\text{淀粉含量(mg/mL)} = (\Delta A + 0.0134) \div 4.2188 \times V \div V2 \times 0.9 \times D = 3.627 \times (\Delta A + 0.0134) \times D$$

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 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）。将母液用蒸馏水稀释成六个浓度梯度的标准品，例如：0, 0.06, 0.12,

0.18, 0.24, 0.3. mg/mL。也可根据实际样本调整标准品浓度。

2 标品稀释参照表如下：

吸取标准品母液 300uL，加入 700uL 蒸馏水，混匀得到 0.3mg/mL 的标品稀释液待用。						
标品浓度 mg/mL	0	0.06	0.12	0.18	0.24	0.3
标品稀释液 uL	0	40	80	120	160	200
水 uL	200	160	120	80	40	0
各标准管混匀待用。						

3 依据加样表操作，根据结果，以各浓度吸光值减去 0 浓度吸光值，过 0 点制作标准曲线。

试剂名称 (μL)	标准管	0 浓度管 (仅做一次)
标品	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， $\Delta A = A$ 测定-0 浓度管。		