

淀粉含量试剂盒说明书

(货号: BP10267F 分光法 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:

试剂组分	试剂规格	存放温度	注意事项
试剂一	液体 60mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二	粉剂 2 瓶	4℃避光保存	
标准品	粉剂 1 支	4℃保存	1. 若重新做标曲, 则用到该试剂; 2. 按照说明书中标曲制作步骤进行配制; 3. 溶解后的标品一周内用完。

工作液配制: 临用前在一瓶试剂二中加入 5.25mL 蒸馏水后, 缓慢加入 15.75mL 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:

研钵(匀浆机)、冰盒(制冰机)、台式离心机、可调式移液枪、水浴锅(烘箱、培养箱、金属浴)、1ml 比色皿、离心管、分光光度计、蒸馏水(去离子水、超纯水均可)、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:

- 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, 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。

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：ss

- ① 分光光度计预热 30min，设置温度在 25℃，蒸馏水调零，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：

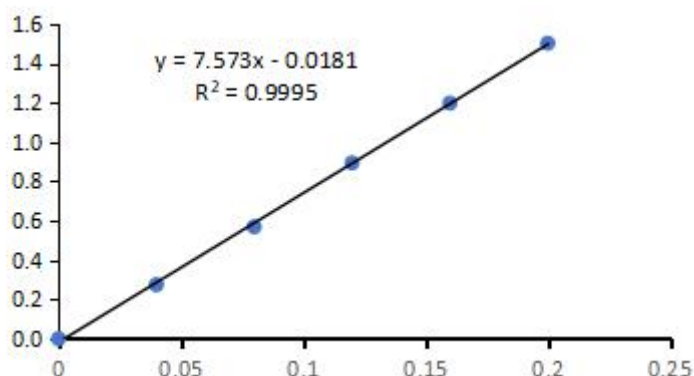
试剂名称 (μL)	测定管	空白管（仅做一次）
样本	150	
蒸馏水		150
工作液	750	750

混匀，95℃水浴 10 min（盖紧，防止水分散失），自然冷却至室温，全部液体转移至 1mL 玻璃比色皿中，于 620 nm 处读取各管吸光值 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、标准曲线：y = 7.573x - 0.0181；x 为葡萄糖浓度（mg/mL）；y 为 ΔA 。



- 2、按样本鲜重计算：

$$\begin{aligned} \text{淀粉含量(mg/g 重量)} &= (\Delta A + 0.0181) \div 7.573 \times V1 \div (W \times V1 \div V) \times 0.9 \times D \\ &= 0.0202 \times (\Delta A + 0.0181) \div W \times D \\ \text{淀粉含量(\%)} &= [(\Delta A + 0.0181) \div 7.573 \times V1 \div (W \times V1 \div V) \times 0.9 \times D] \times 10^{-3} \times 100 \\ &= [0.0202 \times (\Delta A + 0.0181) \div W \times D] \% \end{aligned}$$

- 3、按样本蛋白浓度计算：

$$\begin{aligned} \text{淀粉含量(mg/mg prot)} &= (\Delta A + 0.0181) \div 7.573 \times V1 \div (Cpr \times V1 \div V) \times 0.9 \times D \\ &= 0.0202 \times (\Delta A + 0.0181) \div Cpr \times D \end{aligned}$$

- 4、按液体样本计算：

$$\text{淀粉含量(mg/mL)} = (\Delta A + 0.0181) \div 7.573 \times V \div V2 \times 0.9 \times D = 2.02 \times (\Delta A + 0.0181) \times D$$

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，0.15mL；

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 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）。将母液用蒸馏水稀释成六个浓度梯度的标准品，例如：0, 0.04, 0.08, 0.12, 0.16, 0.2. 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 200uL，加入 800uL 蒸馏水，混匀得到 0.2mg/mL 的标品稀释液待用。						
标品浓度 mg/mL	0	0.04	0.08	0.12	0.16	0.2
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	150	
蒸馏水		150
工作液	750	750
混匀，95℃水浴 10 min（盖紧，防止水分散失），自然冷却至室温，全部液体转移至 1mL 玻璃比色皿中，于 620 nm 处读取各管吸光值 A， $\Delta A = A$ 测定-0 浓度管。		