

上海茁彩生物科技有限公司
Shanghai zcibio technology Co., Ltd.



生化检测原理示意图

淀粉含量检测试剂盒说明书

微量法

注意：正式测定之前选择2-3个预期差异大的样本做预测定。

产品内容：

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
试剂一	液体 100mL×1 瓶	4℃保存	-
试剂二	液体 35mL×1 瓶	4℃保存	-
试剂三	粉剂×1 瓶	4℃保存	-
标准品	粉剂×1 支	4℃保存	10mg 无水葡萄糖，临用前加入1mL 蒸馏水使其溶解，制备10mg/mL葡萄糖标准液。

产品说明：

淀粉是植物中糖的主要储存形式，其含量测定对于评价食品营养价值和调查植物体内糖代谢都有重要意义。

利用 80%乙醇可以把样品中可溶性糖与淀粉分开，进一步采用酸水解法分解淀粉为葡萄糖，采用蒽酮比色法测定葡萄糖含量，即可计算淀粉含量。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、水浴锅、可调式移液器、微量玻璃比色皿或者 96 孔板、研钵、冰、浓硫酸（不允许快递）、蒸馏水。

操作步骤：

一、淀粉提取：

- 称取约 0.1g 样品于研钵中研碎，加入 1mL 试剂一，充分匀浆后转移到 EP 管中，80℃水浴提取 30min，3000g，常温离心 5min，弃上清，留沉淀。
- 沉淀中加入 0.5mL 双蒸水，放入沸水浴中糊化 15min（盖紧，以防止水分散失）。
- 冷却后，加入 0.35mL 试剂二，常温提取 15min，振荡 3-5 次。
- 加入 0.85mL 双蒸水，混匀，3000g，常温离心 10min，取上清液待测。
- 取上清液 100 μL 加入 300 μL 蒸馏水后即进行了四倍稀释测定。

注：若稀释四倍后样品吸光度大于 1.5 或小于 0.1，建议将样品再进行适当稀释或浓缩后测量。
标准溶液准备：将 10mg/mL 葡萄糖标准液进行稀释得到 0.4、0.2、0.1、0.05、0.025、0.0125、0.00625、0.003125、0.00156mg/mL 标准溶液备用。

二、测定步骤：

- 1、分光光度计或酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 620nm，蒸馏水调零。
- 2、调节水浴锅至 95℃。
- 3、工作液的配制：临用前在试剂三中加入 5.25mL 蒸馏水后，缓慢加入 29.75mL 浓硫酸，不断搅拌，充分溶解，待用。
- 4、标准品测定：取 50 μL 标准溶液（蒸馏水做空白）和 250 μL 工作液至 EP 管中，95℃水浴 10 min（盖紧，防止水分散失），自然冷却至室温，取 200 μL 至 96 孔板或微量玻璃比色皿中，在 620 nm 波长下测定吸光度值 A 标准及 A 空白。计算 $\Delta A = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。
- 5、样本测定：取 50 μL 样本和 250 μL 工作液至 EP 管中，95℃水浴 10 min（盖紧，防止水分散失），自然冷却至室温，取 200 μL 至微量玻璃比色皿/96 孔板中，在 620 nm 波长下测定吸光度值 A 测定。计算 $\Delta A' = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ 。

三、淀粉含量计算：

1、标准曲线绘制：

以 0.4、0.2、0.1、0.05、0.025、0.0125、0.00625、0.003125、0.00156mg/mL 葡萄糖标准溶液为横坐标， ΔA 为纵坐标绘制标准曲线，得到线性回归方程 $y=kx+b$ ，将 $\Delta A'$ 代入方程得到 x (mg/mL)；

2、淀粉含量计算：

①、按照蛋白浓度计算

$$\text{淀粉含量(mg/mg prot)} = x \times \text{稀释倍数} \times V_{\text{提取}} \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{提取}}) = 4x \div C_{\text{pr}}$$

②、按样本鲜重计算

$$\text{淀粉含量(mg/g 鲜重)} = x \times \text{稀释倍数} \times V_{\text{提取}} \div W = 6.8x \div W$$

$V_{\text{提取}}$ ：提取后体积，1.7 mL； C_{pr} ：样本提取后蛋白质浓度，mg/mL； W ：样品鲜重，g；稀释倍数： $(300 \mu\text{L} + 100 \mu\text{L}) \div 100 \mu\text{L} = 4$ 。

注意：由于工作液具有强腐蚀性，请谨慎操作。