

淀粉含量检测试剂盒说明书

| 产品货号 | 产品名称 | 包装规格 | 测定方法 |
|-----------|-----------|------|------|
| PMHD3-M96 | 植物淀粉含量试剂盒 | 96T | 微量法 |

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%乙醇可以把样本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。

试剂组成:

| 试剂名称 | 规格 | 保存条件 |
|------|--------------|---------|
| 试剂一 | 液体 65mL×1 瓶 | 2-8℃ 保存 |
| 试剂二 | 液体 65 mL×1 瓶 | 2-8℃ 保存 |
| 试剂三 | 粉剂×2 瓶 | 2-8℃ 保存 |
| 标准品 | 粉剂×1支 | 2-8℃ 保存 |

溶液的配制:

- 1、试剂二：临用前取 1 支加入 1.5 mL 试剂一，充分溶解后待用，用不完的试剂 2-8℃ 保存 4 周；
- 2、标准品：10 mg 无水葡萄糖。临用前加入 1 mL 蒸馏水溶解，配成 10 mg/mL 葡萄糖溶液备用，2-8℃ 可保 存两周；

操作步骤:

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

- 1、称取约 0.03g 样本于研钵中研碎，加入 0.6mL 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。
- 2、沉淀中加入 0.3mL 双蒸水，放入沸水浴中糊化 15min（盖紧，以防止水分散失）。
- 3、冷却后，加入 0.6mL 试剂二，放入沸水浴中提取 15min，振荡 3-5 次。
- 4、冷却后，8000g，常温离心 15min，取上清液待测。若离心后仍有浑浊，可重复离心，取上清即可。

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，分光光度计蒸馏水调零。
2. 调节水浴锅至 95℃。
3. 标准品的制备：将 10mg/mL 葡萄糖标准液进行稀释得到 0.4、0.2、0.1、0.05、0.04、0.03、0.02mg/mL 标准溶液 备用。

4. 标准品稀释表:

| 序号 | 稀释前浓度 (mg/mL) | 标准液体积 (μL) | 蒸馏水体积 (μL) | 稀释后浓度 (mg/mL) |
|----|---------------|-------------------------|-------------------------|---------------|
| 1 | 10 | 100 | 900 | 1 |
| 2 | 1 | 400 | 600 | 0.4 |
| 3 | 1 | 200 | 800 | 0.2 |
| 4 | 1 | 100 | 900 | 0.1 |
| 5 | 0.1 | 250 | 250 | 0.05 |
| 6 | 0.1 | 200 | 300 | 0.04 |
| 7 | 0.1 | 150 | 350 | 0.03 |
| 8 | 0.1 | 100 | 400 | 0.02 |

实验中每个标准管需50 μL 标准溶液。

5. 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 $^{\circ}\text{C}$ 水浴10min (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620nm波长下测定吸光度值A标准及A空白。计算 $\Delta A = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。标准曲线只需做1-2次。

6. 样本测定: 取50 μL 样本和250 μL 工作液至EP管中, 95 $^{\circ}\text{C}$ 水浴10min (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620nm波长下测定吸光度值A测定。计算 $\Delta A' = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ 。标准曲线和空白管只需做1-2次。

三、淀粉含量计算

1、标准曲线绘制:

根据标准管的浓度(x, mg/mL)和吸光度 $\Delta A_{\text{标准}}$ (y, $\Delta A_{\text{标准}}$), 建立标准曲线。根据标准曲线, 将 $\Delta A'$ 代入方程得到x (mg/mL)

2、淀粉含量计算:

$$\text{淀粉含量}(\text{mg/g 质量}) = x \times V_{\text{提取}} \div W \div 1.11 \times F = 0.811x \div W \times F$$

V 提取: 提取后体积, 0.9mL; W: 样本质量, g; F: 样本稀释倍数; 1.11: 是此法测得葡萄糖含量换算为淀粉含量的常数, 即111 μg 葡萄糖用蒽酮试剂显色相当于100 μg 淀粉用蒽酮试剂显示的颜色。

注意事项:

1. 由于工作液具有强腐蚀性, 请谨慎操作。
2. 如果测定吸光值超过线性范围吸光值, 可以增加样本量或者稀释样本后再进行测定。