

植物淀粉含量试剂盒说明书

微量法 100管/96样

正式测定前务必取2-3个预期差异较大的样本做预测定

测定意义：

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。

测定原理：

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、微量石英比色皿/96孔板、研钵、冰、浓硫酸（不允许快递）和蒸馏水。

试剂的组成和配制：

试剂一：液体100mL×1瓶，4℃保存；

试剂二：液体105mL×1瓶，4℃保存；

试剂三：粉剂×1瓶，4℃保存；

淀粉提取：

1. 称取0.1~0.2g新鲜样本（建议称取约0.1g新鲜样本）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，25℃离心5min，弃上清，留沉淀。
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试剂二，25℃常温提取15min，振荡3-5次。
4. 加入0.85mL蒸馏水，混匀，3000g，25℃离心10min，取上清液待测。

注意：如样本为淀粉含量较高的干样，为保证充分提取，可适当减小取样量，如称取0.01g~0.02g干样，加入1mL试剂一，其余提取步骤同上。

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度。

3、工作液的配制：临用前在试剂三中加入3.75mL蒸馏水后，缓慢加入21.25mL浓硫酸，不断搅拌，充分溶解，待用；用不完的试剂4℃保存一周；

4、样本测定：取50μL样本和250μL工作液至EP管中，95度水浴10 min（盖紧，防止水分散失），自然冷却至室温，取200μL至微量石英比色皿或96孔板中，在620 nm 波长下记录测定吸光度值A。

淀粉含量计算:

a.用微量石英比色皿测定的计算公式如下

标准条件下测定的回归方程为 $y = 5.872x - 0.0295$; x 为标准品浓度 (mg/mL), y 为吸光值。

1、按照蛋白浓度计算

$$\text{淀粉含量(mg/mg prot)} = [(A+0.0295) \times V1] \div 5.872 \div (V1 \times Cpr) = 0.17 \times (A+0.0295) \div Cpr$$

2、按样本鲜重计算

$$\text{淀粉含量(mg/g 鲜重)} = [(A+0.0295) \times V1] \div 5.872 \div (W \times V1 \div V2) = 0.289 \times (A+0.0295) \div W$$

$V1$: 加入反应体系中样本体积, 0.05mL; $V2$: 加入提取液体积, 1.7 mL; Cpr : 样本蛋白质浓度, mg/mL; W : 样本质量, g

b.用96孔板测定的计算公式如下

标准条件下测定的回归方程为 $y = 2.936x - 0.0295$; x 为标准品浓度 (mg/mL), y 为吸光值。

1、按照蛋白浓度计算

$$\text{淀粉含量(mg/mg prot)} = [(A+0.0295) \times V1] \div 2.936 \div (V1 \times Cpr) = 0.34 \times (A+0.0295) \div Cpr$$

2、按样本鲜重计算

$$\text{淀粉含量(mg/g 鲜重)} = [(A+0.0295) \times V1] \div 2.936 \div (W \times V1 \div V2) = 0.578 \times (A+0.0295) \div W$$

$V1$: 加入反应体系中样本体积, 0.05mL; $V2$: 加入提取液体积, 1.7 mL; Cpr : 样本蛋白质浓度, mg/mL; W : 样本质量, g

注意: 由于工作液具有强腐蚀性, 请谨慎操作。

若吸光值大于1, 请将样本用提取液稀释后再测定, 计算公式中乘以相应的稀释倍数。

提取液的配置: 0.35mL试剂二+1.35mL水。用多少按照此比例配多少。

最低检测限为10 μ g/g鲜重或100ng/mgprot。