



淀粉含量试剂盒(酶法)

可见分光光度法

货号: R43941-48S

产品简介:

淀粉是一种多糖,广泛存在于生物体中。测定淀粉的方法大致分为酸水解或酶法:酸水解方法仅适用于纯淀粉样品,因此应用有限。

本试剂盒提供一种酶法来检测样本中的淀粉含量,按照步骤使样本中的淀粉分离出来,再用仅水解淀粉的酶复合物使淀粉水解为葡萄糖,通过检测葡萄糖含量得到淀粉的含量。

试剂盒的组成和配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	液体50mL×1瓶	4℃保存	试剂一稀释液: 30mL试剂一+70mL蒸馏水混匀
试剂二	液体20mL×1瓶	4℃保存	
试剂三	粉剂mg×1瓶	-20℃保存	用前甩几下使试剂落入底部, 再加3mL的试剂二溶解备用。
试剂四	粉剂mg×1支	-20℃保存	用前甩几下使试剂落入底部, 再加4.2mL的蒸馏水溶解备用。
试剂五	液体30mL×1瓶	4℃保存	
标准品	粉体mg×1支	室温干燥保存	用前准确称取2mg粉体即葡萄糖至一新EP管中, 再加2mL试剂二充分溶解即得1mg/mL标准品, 待用。(该标准品粉体开封后也需干燥保存和使用)

所需的仪器和用品:

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿(光径1cm)、水浴锅、可调式移液器、研钵、冰、二甲基亚砷(DMSO)、乙醇、石油醚和蒸馏水。

总淀粉含量测定:

建议正式实验前选取2个样本做预测定,熟悉实验流程,避免实验样本和试剂浪费!



1、样本制备:

①a. 干样处理: 取1-5g 样本烘干(50℃)至恒重, 磨碎并过筛(60目筛)得到待检均匀粉末样本; 取10mg 粉末样本, 至2mLEP 管中; 除脂: 向 EP 管中加入0.5mL 的石油醚, 研磨匀浆, 50℃振荡30min(也可间隔3min 上下晃动几下), 12000rpm, 室温(25℃)离心5min, 弃上清, 留沉淀(尽量保留沉淀)(若样本含脂量少, 此步可省去); 除糖: 接着向沉淀中加入1mL 80%乙醇震荡混匀2min, 50℃水浴 20min (间隔3min 晃动几下), 取出冷却后, 12000rpm, 室温(25℃)离心5min, 弃上清, 留沉淀(尽量保留沉淀)(乙醇除糖这步再重复一次), (若样本含糖量少, 此步可省去)。向最后得到的沉淀中加入0.5mL 的 DMSO 并涡旋振荡使样本分散 悬浮于液体中(勿沉积于管底或块状悬浮)。

b. 鲜样处理: 称取0.1g 鲜样于研钵中, 除脂: 加入0.5mL 的石油醚, 研磨匀浆, 转移至2mLEP 管中并定容至1mL, 50℃ 振荡30min (也可间隔3min 上下晃动 几下), 12000rpm, 室温(25℃)离心5min, 弃上清, 留沉淀(尽量保留沉淀) (若样本含脂量少, 此步可省去); 除糖: 向沉淀中接着加入1mL 80%乙醇震荡 混匀2min, 50℃ 水浴 20min, 取出冷却后, 12000rpm, 室温(25℃)离心5min, 弃上清, 留沉淀(尽量保留沉淀)(乙醇除糖这步再重复一次), (若样本含糖量少, 此步可省去)。向沉淀中加入0.5mL 的 DMSO 并涡旋振荡使样本分散悬浮 于液体中(勿沉积于管底或块状悬浮)。

②沸水浴直到样本呈分散溶解状态(约2min, 确保没有凝胶块状); 高速涡旋振荡后再沸水浴15min (间歇2-3min 振荡一次, 使样本全部分散溶解, 若凝胶块仍存在, 可增加沸水浴时间和振荡次数直到凝胶块完全溶解);

③样本取出置室温约5min 使样本冷却后再加1mL 无水乙醇立即高速涡旋振荡, 避免聚合(建议逐个样本操作), 再加0.5mL 无水乙醇来回颠倒EP 管, 静置5min(有淀粉白色沉淀物产生), 5000rpm 室温离心5min, 弃上清留沉淀(使EP 管轻轻倒置于吸水纸上约5min 吸干剩余乙醇);

④向沉淀中加1mLDMSO 涡旋振荡混匀, 沸水浴15min (间歇2-3min 振荡一次, 使样本全部分散溶解, 确保没有凝胶块, 若凝胶块最终难完全溶解需弃掉重新制备)。



⑤若是谷物样本，第④步得到的溶液中有杂质，需待自然冷却5min 后于3000rpm 室温(25℃,低于10℃会结冻)离心5min，上清液备用；若是纯淀粉样本，第④步得到的溶液呈澄清状，不需离心自然冷却5min 备用；取出0.1mL 澄清备用液于新 2mL的 EP 管中，再加0.9mL 试剂一稀释液即为待检测液，即稀释10倍(该待检液测定务必在2个小时内进行后面的实验)。

备注：若样本自身淀粉含量较低，可降低稀释倍数，如稀释2-5倍。

2、上机检测：

①可见分光光度计预热30min 以上，条件波长至510nm，蒸馏水调零。

②总淀粉上清液制备：在EP管中依次加入：

试剂名称(μL)	总淀粉测定管
待检液	40
试剂二	300
试剂三	50
40℃温育30min后，混合液待测，转第③步	

③显色反应，在96孔板中依次加入：

试剂名称(μL)	总淀粉测定管	空白管(仅做一次)	标准管(仅做一次)
液体	160μL总淀粉上清液	160μL试剂二	16μL标准品 +144μL试剂二
试剂四	80	80	80
试剂五	560	560	560
混匀，40℃下，避光温育20min,于510nm处读取吸光值A。			

结果计算：

总淀粉含量(mg/g 重量)=(C 标准×V2)×(A 总淀粉-A 空白)÷(A 标准-A 空白)÷(W×V1总淀粉÷V)×D×6.5×0.9

=9.75×(A总淀粉-A 空白)÷(A 标准-A 空白)÷W×0.9×D

总淀粉含量(%)=(C 标准×V2)×(A 总淀粉-A 空白)÷(A 标准-A 空白)÷(W×V1 总淀粉÷V)×D×6.5÷10×0.9

=0.975×(A 总淀粉-A 空白)÷(A 标准-A 空白)÷W×0.9×D



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 400-666-5481 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: 3008007435@qq.com

V--- 待检液总体积, 1mL;

V1 总淀粉---待检液体积, 0.04mL;

V2--- 显色反应中标品体积, 0.16mL;

C 标准---0.1mg/mL 葡萄糖;

D--- 稀释10倍;

W---样本质量, g;

9.75---总淀粉的稀释倍数。



源叶