

## Amylum Content Assay Kit

### 淀粉含量测定试剂盒(酶法) 微板法

产品编号	产品名称	规格
BL1798B	淀粉含量测定试剂盒(酶法) 微板法	96T

#### 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。

#### 产品组成:

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	100mL×1 瓶	4°C保存	试剂一稀释液：30mL 试剂一+70mL 蒸馏水混匀
试剂二	40mL×1 瓶	4°C保存	
试剂三	粉末×1 瓶	-20°C保存	用前甩几下使试剂落入底部，再加 5.5mL 的试剂二溶解备用。
试剂四	粉末×1 支	-20°C保存	用前甩几下使试剂落入底部，再加 2.1mL 的蒸馏水溶解备用。
试剂五	14mL×1 瓶	4°C保存	
标准品	粉末×1 支	室温干燥保存	用前准确称取 2mg 粉体即葡萄糖至一新离心管中，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）

#### 使用方法:

##### 一、样本准备

##### 1. 样品处理:

- (a) 干样处理：取 1-5g 样本烘干（50°C）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 2mL 离心管中；除脂：向离心管中加入 0.5mL 的石油醚，研磨匀浆，50°C 振荡 30min（也可间隔 3min 上下晃动几下），12000rpm，室温（25°C）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°C 水浴 20min（间隔 3min 晃动几下），取出冷却后，12000rpm，室温（25°C）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 2mL 离心管中并定容至 1mL，50°C 振荡 30min（也可间隔 3min 上下晃动几下），12000rpm，室温（25°C）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°C 水浴 20min，取出冷却后，12000rpm，室温（25°C）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

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.

注意：在体外研究使用，不用于诊断或治疗用途，本产品不是医疗装置。



(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 无水乙醇来回颠倒离心管, 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(使离心管轻轻倒置于吸水纸上约 5min 吸干剩余乙醇);
4. 向沉淀中加 1mL DMSO 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°C, 低于 10°C 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 的离心管中, 再加 0.9mL 试剂一稀释液即为待检测液, 即稀释 10 倍(该待检测液测定务必在 2 个小时内进行后面的实验)。

【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。

## 二、样品测定

1. 酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 510nm。
2. 总淀粉上清液制备: 在离心管中依次加入:

试剂名称 (μL)	总淀粉测定管
待检液	40
试剂二	300
试剂三	50
40°C 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	60μL 总淀粉上清液	60μL 试剂二	40μL 标准品+360μL 试剂二(现配现用), 取出 60μL
试剂四	20	20	20
试剂五	140	140	140
混匀, 40°C 下, 避光温育 20min, 于 510nm 处读取吸光值 A。			

## 三、结果计算

$$\text{总淀粉含量(mg/g 重量)} = (C \text{ 标准} \times V2) \times (A \text{ 总淀粉} - A \text{ 空白}) \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \div (W \times V1 \text{ 总淀粉} \div V) \times D \times 6.5 \times 0.9 = 9.75 \times (A \text{ 总淀粉} - A \text{ 空白}) \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \div W \times 0.9$$

$$\text{总淀粉含量(\%)} = (C \text{ 标准} \times V2) \times (A \text{ 总淀粉} - A \text{ 空白}) \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \div (W \times V1 \text{ 总淀粉} \div V) \times D \times 6.5 \div 10 \times 0.9 = 0.975 \times (A \text{ 总淀粉} - A \text{ 空白}) \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \div W \times 0.9$$

V---定容后待检液总体积, 1 mL

V1 总淀粉---待检液体积, 0.04mL

V2---显色反应中标准品体积, 0.06mL

D---稀释 10 倍

C 标准---0.1mg/mL 葡萄糖

W---样本鲜重, g

9.75---总淀粉的稀释倍数

## 注意事项:

1. 本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品。
2. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

## 有效期:

-20°C 保存六个月。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.

注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。

