CheKine™ 淀粉含量检测试剂盒（微量法）

货号: KTB1371　　规格: 96 T/96 S　　批号：见产品标签

≠	**检测范围：**0.02-1 mg/mL（标准品浓度）		**灵敏度：**0.02 mg/mL（标准品浓度）
	适用样本：植物组织		
	保质期：4℃，避光保存 6 个月		

01 背景与原理

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。

本试剂盒检测原理是利用 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将淀粉分解为葡萄糖，采用蒽酮比色法测定葡萄糖含量，即可计算淀粉含量。

02 包装清单

试剂盒组分	规格（96 T）	储存要求
Extraction Buffer	120 mL	4℃
Reagent Ⅰ	50 mL	4℃
Reagent Ⅱ	Powder×1 vial	4℃，避光保存
Standard	Powder×1 vial	4℃

***请在实验前检查各组分的量。**

***各组分在规格基础上额外提供 10%的量用于进行标准曲线制作或预实验。**

03 自备仪器与试剂

自备资源类型	资源名称	备注
仪器	酶标仪	能测 620 nm 处的吸光度
耗材	96 孔酶标板	普通透明板
试剂	去离子水、浓硫酸	稀释标准品/试剂配制用
其他	匀浆器（组织样本）、水浴锅、离心机、可调节式移液枪及枪头、封口膜	检测量较大时合理使用多通道移液器有助于提高实验效率

04 注意事项

- **正式检测前，建议选择 2-3 个预期差异较大的样本进行预实验。**
- 本试剂盒兼容分光光度计检测，请按照分光光度计检测要求按比例调节检测试剂配制量。如有疑问，可咨询本司技术人员（400-6800-830）。
- 建议实验者自行建立标准曲线以提高结果准确度。如未自行建立标准曲线，可参考结果展示部分的典型标准曲线公式进行结果计算。
- 生化检测试剂普遍具有刺激性、生物毒性等，为了您的安全和健康，**请在实验全程做好生物安全防护**，穿戴实验服、口罩、手套、头套等安全护具，在通风橱、生物安全柜中进行实验。
- 本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。

05 实验流程

05-1 试剂准备

05-1-1 试剂准备

试剂名称	试剂准备	注意事项
Extraction Buffer	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存
Reagent Ⅰ	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存；有刺激性气味，建议在通风橱进行实验
Working Reagent Ⅱ	临用前配制，加入 5.25 mL 去离子水后，缓慢加入 29.75 mL 浓硫酸，不断搅拌，充分溶解待用	4℃避光可保存 1 周；试剂有毒且浓硫酸有强腐蚀性，建议在通风橱进行实验
10 mg/mL Standard	临用前配制；加入 1 mL 去离子水充分溶解，即为 10 mg/mL 标准液	4℃可保存 2 周

05-1-2 标准品配制

使用 10 mg/mL 标准液，按照下表所示，进一步稀释标准品。每次实验都要做一次标准品检测，制作标曲；稀释后的标准品溶液不稳定，必须在 4 小时内使用。

序号	标准品（μL）	去离子水（μL）	浓度（mg/mL）
1	200 μL 10 mg/mL	1800	1
2	400 μL of 1 mg/mL	600	0.4
3	200 μL of 1 mg/mL	800	0.2
4	100 μL of 1 mg/mL	900	0.1
5	50 μL of 1 mg/mL	950	0.05
6	40 μL of 1 mg/mL	960	0.04
7	30 μL of 1 mg/mL	970	0.03
8	20 μL of 1 mg/mL	980	0.02
空白	0	1000	0

05-2 样本制备

注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存 1 个月。测定时，应控制解冻的温度和时间。室温环境下解冻时，需在 4 h 内完成样品解冻。部分试剂有强腐蚀性，操作时须做好防护。

- 植物组织经 37℃烘干或自然风干后，称取约 0.03 g 样本于研钵中研碎，加入 1 mL Extraction Buffer，快速匀浆后转移到 2 mL EP 管中（建议使用螺旋盖管。盖紧并使用封口膜缠绕管口，防止爆盖）80℃水浴提取 30 min，3000 g，25℃离心 5 min，弃上清，留沉淀。
- 向沉淀中加入 0.5 mL 去离子水，放入 95℃水浴中糊化 15 min（盖紧并使用封口膜缠绕管口，防止爆盖）。
- 冷却后，加入 0.35 mL Reagent Ⅰ，放入 95℃水浴中提取 15 min（盖紧并使用封口膜缠绕管口，防止爆盖），期间振荡 3-5 次。
- 冷却后，加入 0.85 mL 去离子水，混匀，3000 g，25℃离心 10 min，取上清液待测。

05-3 实验步骤

1. 酶标仪准备：预热 30 min 以上，调节波长到 620 nm。

2. 检测体系配制：在 1.5 mL EP 管（建议使用螺旋盖管）中按照如下方式操作，标准曲线和空白管只需做 1-2 次。

试剂	测定管（μL）	标准管（μL）	空白管（μL）
样本上清	50	0	0
Standard	0	50	0
去离子水	0	0	50
Working Reagent Ⅱ	250	250	250

3. 混匀后，放入 95℃水浴 15 min（盖紧并使用封口膜缠绕管口），自然冷却至室温。

4. 吸光度检测：充分混匀，取 200 μL 至 96 孔板中，于 620 nm 处测定吸光值，分别记为 $A_{测定}$、$A_{标准}$和 $A_{空白}$。

06 结果计算

06-1 自动计算

为帮助您更轻松、准确地完成相关计算，我们特在官网提供了“在线计算器小工具”。您无需手动计算，只需在网页上输入数值，即可快速获得可靠结果。访问方式：请扫描右侧**二维码**或访问官网[https://www.abbkine.cn]>进入“**技术中心**”>查找“**在线计算器**”**工具**。

06-2 手动计算

以下为您提供的推导过程计算公式和简洁计算公式，两者完全相等。

1. 数据处理

计算$\Delta A_{测定}=A_{测定}-A_{空白}$，$\Delta A_{标准}=A_{标准}-A_{空白}$。

2. 标准曲线绘制

以标准品浓度为 y 轴，$\Delta A_{标准}$为 x 轴，绘制标准曲线。将$\Delta A_{测定}$代入方程得到 y 值（mg/mL）。

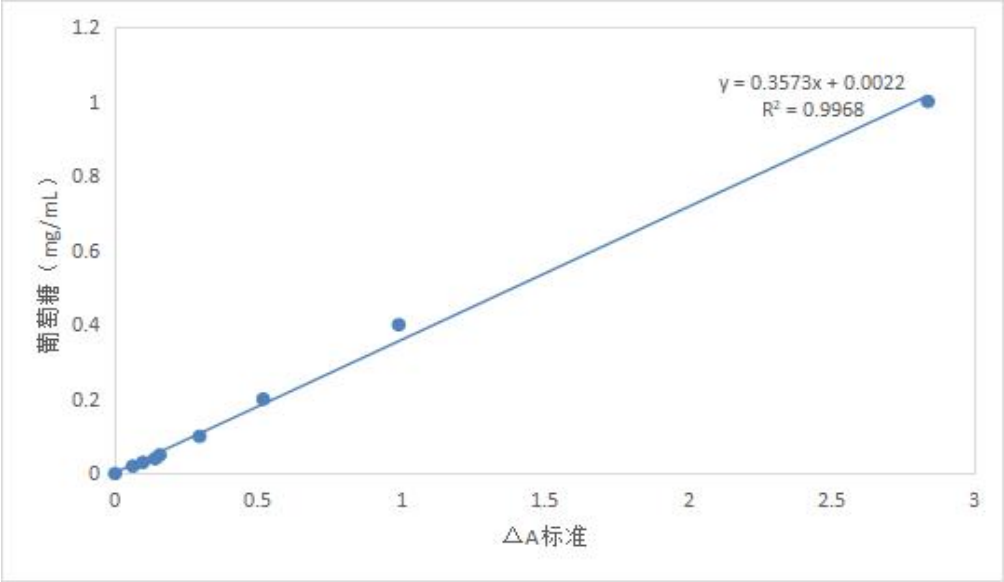
3. 淀粉含量的计算：

淀粉含量(mg/g)=$y\times V_{样}\div(W\times V_{样}\div V_{样总})\div 1.11\times n$**=y×1.53÷W×n**

$V_{样}$：加入反应体系中样本体积，0.05 mL；$V_{样总}$：加入提取液体积，1.7 mL；W：样本质量，g；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；n：样本稀释倍数。

07 结果展示

典型标准曲线:



示例-1: 取 0.027 g 黑米稀释 80 倍，按照测定步骤操作，用 96 孔板进行检测。测得$\Delta A_{测定}=A_{测定}-A_{空白}$=0.664-0.229=0.435，代入标准曲线，计算 y=0.158。计算得：淀粉含量(mg/g)=y×$V_{样}$÷(W×$V_{样}$÷$V_{样总}$)÷1.11×n**=y×1.53÷W×n**=716.3 mg/g。

08 FAQ

- **检测得到的样本 $A_{测定}$过高或者过低怎么办?**

如果样本 $A_{测定}$>1.5，样本上清液可用提取液（按照 0.35 mL Reagent Ⅰ：1.35 mL 去离子水的比例，按需配制）进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数。如果样本的 $A_{测定}$<0.3，可适当提高样本量。

09 相关产品

货号	试剂盒名称
KTB1100	CheKine™ 乳酸（LA）含量检测试剂盒（微量法）
KTB1121	CheKine™ 丙酮酸（PA）含量检测试剂盒（微量法）

CheKine™ 淀粉含量检测流程示意图

（Abbkine 货号 ： KTB1371）

样本处理



37℃烘干或自然风干，称取约0.03 g研碎
1 mL Extraction Buffer用匀浆器快速匀浆
转入2 mL EP管，80℃水浴30 min



3000 g ，25℃离心5 min
弃上清，留沉淀



加 0.5 mL 去离子水，95℃水浴15 min，冷却
加 0.35 mL Reagent Ⅰ，95℃水浴15 min，
期间振荡3-5次，冷却，加 0.85 mL 去离子水，混匀

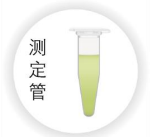


3000 g ，25℃离心10 min
取上清

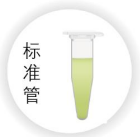


体系配置

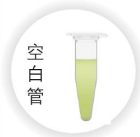
标准品配制



样本上清 50 μL
Working Reagent Ⅱ 250 μL
混匀，95℃水浴15 min
自然冷却至室温



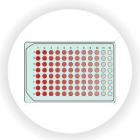
Standard 50 μL
Working Reagent Ⅱ 250 μL
混匀，95℃水浴15 min
自然冷却至室温



去离子水 50 μL
Working Reagent Ⅱ 250 μL
混匀，95℃水浴15 min
自然冷却至室温

数据检测

充分混匀，取200 μL至96孔板中



测定620 nm 的吸光度，结果计算