

淀粉含量试剂盒说明书

(货号: G0507F 分光法 48 样)

一、产品简介:

淀粉是一种多糖,广泛存在于植物的根、茎、叶、种子、果实等组织中。

本产品采用酸水解法,将淀粉分解为葡萄糖,再用蒽酮比色法测定葡萄糖的含量,即可换算淀粉含量,测定波长为620nm。

二、试剂盒组分与配制:

试剂名称	规格	保存要求
试剂一	液体 60mL×1 瓶	4℃保存
试剂二	粉剂×2 瓶	4℃保存
标准品	粉剂×1 支	若重新做标曲,则用到该试剂
工作液配制:临用前在一瓶试剂二中加入 5.25mL 蒸馏水后,缓慢加入 15.75mL 浓硫酸,不断搅拌,充分溶解(可通过超声辅助加速溶解),待用;用不完的试剂 4℃保存一周。		

三、所需仪器和用品:

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿(光径 1cm)、水浴锅、移液器、研钵、常温离心机、浓盐酸、浓硫酸、乙醇、蒸馏水。

四、淀粉含量测定:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定,了解本批样品情况,熟悉实验流程,避免实验样本和试剂浪费!

1、样本制备:

1.1 组织样本:

- 称取约 0.1g 组织样本(若是干样取 0.05g,若是高淀粉干样取 0.01g 即可)于研钵中研碎,加入 1mL 试剂一,充分匀浆后转移到 EP 管中,50℃水浴提取 30min(间隔 3min 晃动几下),10000rpm,25℃离心 5min,弃上清,留沉淀。

【注】:若增加样本量,可按照组织质量(g):试剂一体积(mL)为 1:5~10 的比例进行提取

- 沉淀中加入 0.5mL 蒸馏水后振荡混匀呈分散状,放入 95℃水浴中糊化 15min(盖紧,以防止水分散失)(若有凝胶状态的块状物,糊化 15min 可适当延长至 20-30min 至凝胶块物质溶解)。

- 冷却后,加入 0.35mL 浓盐酸,25℃常温提取 15min,振荡 3-5 次。

- 加入 0.85mL 蒸馏水,混匀,10000rpm,25℃离心 10min,取上清液待测。

1.2 液体样本:

- 取约 0.1mL 液体样本于 EP 管中,加入 0.9mL 无水乙醇后来回颠倒 EP 管,室温静置 5min,10000rpm,25℃离心 5min,弃上清,尽量留沉淀。再次向沉淀中加入 1mL 的 90%乙醇后振荡 5min(使沉淀分散开),再室温静置 5min 后,于 10000rpm,25℃离心 5min,弃上清,留沉淀。

【注】:若增加样本量,可按照液体样本(mL):无水乙醇(mL)为 1:9 的比例进行。

- 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)。

- 冷却后,加入 0.35mL 浓盐酸,25℃常温提取 15min,振荡 3-5 次。

- 加入 0.85mL 蒸馏水,混匀,10000rpm,25℃离心 10min,取上清液待测。

2、上机检测: ss

- 分光光度计预热 30min,设置温度在 25℃,蒸馏水调零,设定波长 620nm。

- ② 先调选 2 个样本做预测定，确定本次样本的稀释(用蒸馏水)倍数 D（如 10 倍）。
- ③ 取 EP 管，按照加样表依次加入：

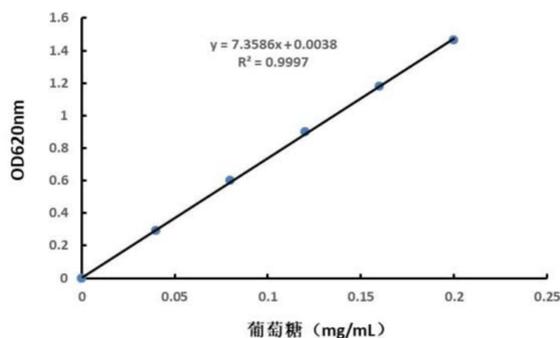
试剂名称 (μL)	测定管	空白管 (仅做一次)
样本	150	
蒸馏水		150
工作液	750	750

混匀，95°C水浴 10 min（盖紧，防止水分散失），自然冷却至室温，全部液体转移至 1mL 玻璃比色皿中，于 620 nm 处读取各管吸光值 A， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ 。

【注】：若吸光值大于 1.5，请将粗提液即样本用提取液或蒸馏水稀释后再测定（严禁稀释加热反应后的混合液，否则会出现浑浊现象），计算公式中乘以相应的稀释倍数 D。

五、结果计算：

- 1、标准曲线： $y = 7.3586x + 0.0038$ ；x 为葡萄糖浓度 (mg/mL)；y 为 ΔA 。



- 2、按样本鲜重计算：

$$\text{淀粉含量(mg/g 重量)} = (\Delta A - 0.0038) \div 7.3586 \times V1 \div (W \times V1 \div V) \times 0.9 \times D$$

$$= 0.2079 \times (\Delta A - 0.0038) \div W \times D$$

$$\text{淀粉含量(\%)} = [(\Delta A - 0.0038) \div 7.3586 \times V1 \div (W \times V1 \div V) \times 0.9 \times D] \times 10^{-3} \times 100$$

$$= [0.2079 \times (\Delta A - 0.0038) \div W \times D] \%$$

- 3、按液体样本计算：

$$\text{淀粉含量(mg/mL)} = (\Delta A - 0.0038) \div 7.3586 \times V \div V2 \times 0.9 \times D = 2.079 \times (\Delta A - 0.0038) \times D$$

V---加入提取液体积，1.7 mL；

V1---加入反应体系中样本体积，0.15mL；

W---样本质量，g；

0.9---葡萄糖折算淀粉的系数；

V2---液体样本取样量，0.1mL；

D---稀释倍数，未稀释即为 1。

附：标准曲线制作过程：

- 1 制备标准品母液 (1mg/mL)：从标准品管中称量取出 2mg 至一新 EP 管中，再加 2mL 蒸馏水混匀溶解即 1mg/mL 的葡萄糖（母液需在两天内用且-20°C保存）。
- 2 把母液用蒸馏水稀释成以下浓度梯度的标准品：0, 0.04, 0.08, 0.12, 0.16, 0.2. mg/mL。也可根据实际本来调整标准品浓度。
- 3 依据加样表操作，根据结果即可制作标准曲线。