

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
工作液的配制: 临用前在一瓶试剂二中加入 6mL 蒸馏水后, 缓慢加入 15mL 浓硫酸, 不断搅拌, 充分溶解, 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、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 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

- 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 浓盐酸, 25℃常温提取 15min, 振荡 3-5 次。
- ④ 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:

- ① 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:

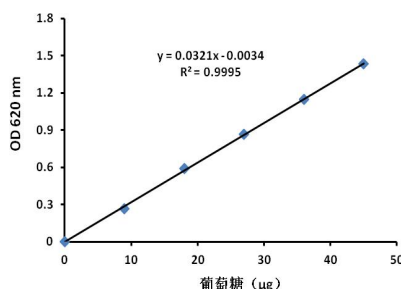
试剂名称 (μL)	测定管	空白管 (仅做一次)
样本	150	
蒸馏水		150
工作液	750	750
混匀, 95℃水浴 10 min (盖紧, 防止水分散失), 自然冷却至室温, 全部液体转移至 1mL 玻璃比色皿中, 于 620 nm 处读取各管吸光值 A, $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ 。		

【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： $y = 0.0321x - 0.0034$ ；x 为葡萄糖质量（ μg ）；y 为 ΔA 。



$$\begin{aligned} \text{2、淀粉含量}(\mu\text{g/g 重量}) &= (\Delta A + 0.0034) \div 0.0321 \div (W \times V1 \div V) \times 0.9 \times D \\ &= 317.8 \times (\Delta A + 0.0034) \div W \times D \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{淀粉含量}(\text{mg/g 重量}) &= (\Delta A + 0.0034) \div 0.0321 \div (W \times V1 \div V) \div 1000 \times 0.9 \times D \\ &= 0.3178 \times (\Delta A + 0.0034) \div W \times D \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{淀粉含量}(\%) &= [(\Delta A + 0.0034) \div 0.0321 \div (W \times V1 \div V) \div 1000 \times 0.9 \times D] \times 10^{-3} \times 100 \\ &= [0.03178 \times (\Delta A + 0.0034) \div W \times D] \% \end{aligned}$$

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；

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℃保存）。
- 2 把母液用蒸馏水稀释成以下浓度梯度的标准品：0, 0.06, 0.12, 0.18, 0.24, 0.3. mg/mL。也可根据实际样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。