

淀粉含量试剂盒说明书

(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：

- 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，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：

- 分光光度计预热 30min，设置温度在 25℃，蒸馏水调零，设定波长 620nm。
- 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）。
- 取 EP 管，按照加样表依次加入：

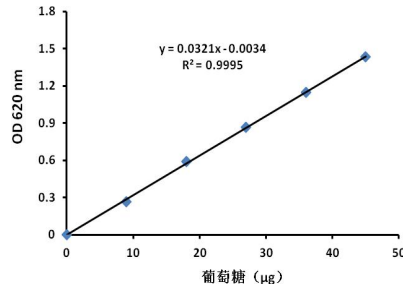
试剂名称（ μL ）	测定管	空白管（仅做一次）
样本	150	
蒸馏水		150
工作液	750	750
混匀，95℃水浴 10 min（盖紧，防止水分散失），自然冷却至室温，全部液体转移至 1mL 玻璃比色皿中，于 620 nm 处读取各管吸光值 A， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ 。		

【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 。



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

淀粉含量(mg/g 重量) $= (\Delta A + 0.0034) \div 0.0321 \div (W \times V1 \div V) \div 1000 \times 0.9 \times D$
 $= 0.3178 \times (\Delta A + 0.0034) \div W \times D$

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

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。