

Starch Content Kit

淀粉含量试剂盒（蒽酮比色法）说明书

货号: BN72191 | 方法: 可见分光法 | 规格: 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

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)。

- 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：ss

- 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：

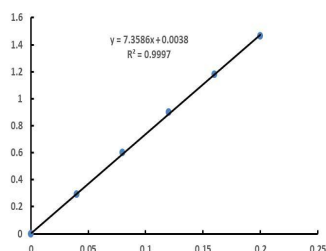
试剂名称（μL）	测定管	空白管（仅做一次）
样本	150	
蒸馏水		150
工作液	750	750

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， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ 。

注意：本操作流程适用于绝大多数常规样本检测，实验条件可根据实际样本状态适度微调；
针对特殊类型样本，我司技术支持可提供专属优化建议。

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 。



标准曲线示意图

说明：标准曲线由标准品测定获得，具体制作方法详见随货说明书或咨询技术支持。

- 2、按样本鲜重计算：

$$\begin{aligned} \text{淀粉含量(mg/g 重量)} &= (\Delta A - 0.0038) \div 7.3586 \times V1 \div (W \times V1 \div V) \times 0.9 \times D \\ &= 0.2079 \times (\Delta A - 0.0038) \div W \times D \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{淀粉含量(\%)} &= [(\Delta A - 0.0038) \div 7.3586 \times V1 \div (W \times V1 \div V) \times 0.9 \times D] \times 10^{-3} \times 100 \\ &= [0.2079 \times (\Delta A - 0.0038) \div W \times D] \% \end{aligned}$$

- 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。