北京沃凯生物科技有限公司
全国免费电话:400-819-385
www.bjoka-vip.com
Tel:010-62971590. Fax:62340519
M-ail:postmaster@oka-vip.com

淀粉含量检测试剂盒说明书

可见分光光度法

货号：D17084

规格：50T/48S

产品组成：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体 50 mL×1 瓶	4℃保存
试剂二	液体 20 mL×1 瓶	4℃保存
试剂三	粉剂×1 瓶	4℃保存
标准品	粉剂×1 支	4℃保存

溶液的配制：

1、 标准品：临用前加入 1 mL 蒸馏水使其溶解，制备 10 mg/mL 葡萄糖标准液。

2、 工作液的配制：临用前在试剂三中加入 13.5 mL 蒸馏水后，缓慢加入 76.5 mL 浓硫酸，不断搅拌，充分溶解，待用。

产品说明：

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。

利用 80%乙醇可以把样本中可溶性糖与淀粉分开，进一步采用酸水解法分解淀粉为葡萄糖，采用蒽酮比色法测定葡萄糖含量，即可计算淀粉含量。

技术指标：

最低检出限：0.0027 mg/mL

线性范围：0.003-0.15 mg/mL

注意：实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计、水浴锅、可调式移液器、1mL 玻璃比色皿、研钵、冰、浓硫酸（不允许快递）、蒸馏水。

操作步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

1、 称取约 0.1g 样本于研钵中研碎，加入 1mL 试剂一，充分匀浆后转移到 EP 管中，80℃水浴提取 30min，3000g，常温离心 5min，弃上清，留沉淀。

2、 沉淀中加入 0.5mL 双蒸水，放入沸水浴中糊化 15min（盖紧，以防止水分散失）。

3、 冷却后，加入 0.35mL 试剂二，常温提取 15min，振荡 3-5 次。

4、 加入 0.85mL 双蒸水，混匀，3000g，常温离心 10min，取上清液。

5、 取上清液 100μL 加入 700μL 蒸馏水后即进行了八倍稀释测定。

注：若稀释八倍后样本吸光度大于 1.5 或小于 0.1，建议将样本再进行适当稀释或浓缩后测量。

二、测定步骤

1．分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 620nm，蒸馏水调零。

2．调节水浴锅至 95℃。

3. 标准品的制备：将 10mg/mL 葡萄糖标准液进行稀释得到 0.1、0.05、0.04、0.03、0.02、0.01mg/mL 标准溶液备用。

4. 标准品测定：取 0.2mL 标准溶液（蒸馏水做空白）和 1mL 工作液至 EP 管中，95℃水浴 10min（盖紧，防止水分散失），自然冷却至室温，在 620nm 波长下测定吸光度值 A 标准及 A 空白。计算 ΔA=A 标准-A 空白。

5. 样本测定：取 0.2mL 样本和 1mL 工作液至 EP 管中，95℃水浴 10 min（盖紧，防止水分散失），自然冷却至室温，在 620nm 波长下测定吸光度值 A 测定。ΔA′=A 测定-A 空白。

三、淀粉含量计算

1、标准曲线绘制：

以 0.1、0.05、0.04、0.03、0.02、0.01mg/mL 葡萄糖标准溶液为横坐标，ΔA 为纵坐标绘制标准曲线，得到线性回归方程 y=kx+b，将ΔA′代入方程得到 x（mg/mL）。

2、淀粉含量计算：

（1）按样本质量计算

淀粉含量(mg/g 质量)=x×稀释倍数×V 提取÷W÷1.11=12.252x÷W

V 提取：提取后体积，1.7 mL；W：样本质量，g；稀释倍数：8；1.11：是此法测得葡萄糖含量换算为淀粉含量的常数，即 111μg 葡萄糖用蒽酮试剂显色相当于 100μg 淀粉用蒽酮试剂显示的颜色。

注意事项：

1. 由于工作液具有强腐蚀性，请谨慎操作。

2. 如果测定吸光值超过线性范围吸光值，可以增加样本量或者稀释样本后再进行测定。

实验实例：

1、取 0.1g 柳树进行样本处理，取上清液，之后按照测定步骤操作，测得计算ΔA′=A 测定-A 空白=0.905-0.097=0.808，标准曲线 y=7.6785x+0.019，计算 x=0.1028，按样本质量计算含量得：

淀粉含量(mg/g 质量)=x×稀释倍数×V 提取÷W=12.252x÷W=12.252×0.1028÷0.1=12.595 mg/g 质量。

相关发表文献：

[1] Moxian Chen,Fuyuan Zhu,Fengzhu Wang,et al. Alternative splicing and translation play important roles in hypoxic germination in rice. Journal of Experimental Botany. January 2019;(IF5.36)

[2] Kunyang Zhuang,Fanying Kong,Song Zhang,et al. Whirly1 enhances tolerance to chilling stress in tomato via protection of photosystem II and regulation of starch degradation. New Phytologist. October 2018;(IF7.299)

[3] Zexun Huai,Lishun Peng,Sheliang Wang,et al. Identification and Characterization of an Arabidopsis thaliana Mutant lbt With High Tolerance to Boron Deficiency. frontiers in plants science. June 2018;(IF4.106)

参考文献：

[1] Clegg K M. The application of the anthrone reagent to the estimation of starch in cereals[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 1956, 7(1): 40-44.

[2] Viles Jr F J, Silverman L. Determination of starch and cellulose with anthrone[J]. Analytical Chemistry, 1949, 21(8): 950-953.