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

注意：本产品试剂有所变动，请注意并严格按照该说明书操作。

货号： RCM1101B

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，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体 35 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	液体 35 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂三	粉剂×2 瓶	2-8℃保存
标准品	粉剂×1 支	2-8℃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，2-8℃保存两周。

2、 工作液的配制： 临用前取 1 瓶试剂三加入 6.75 mL 蒸馏水后， 缓慢加入 38.25 mL 浓硫酸，不断搅拌， 充分溶解，待用， 用不完的试剂可以 2-8℃保存一周。

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。

$$\text{Starch} \xrightarrow{H_2SO_4} \text{Gglucose} \xrightarrow{H_2SO_4} \text{5-Hydroxymethylfurfural} \xrightarrow{\text{Anthrone}} \text{Furfural Derivatives}$$

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/金属浴、可调式移液器、1mL玻璃比色皿、研钵/匀浆器、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0.03g样本于研钵中研碎， 加入0.6mL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0.3mL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0.6mL试剂二，放入沸水浴中提取15min，振荡3-5次。

4、 冷却后，8000g，常温离心15min，取上清液待测。若离心后仍有浑浊，可重复离心， 取上清即可。

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0.2，0.1、0.05、0.04、0.03、0.02、0.01mg/mL标准溶液备用。

4．标准品稀释表：

序号	稀释前浓度(mg/mL)	标准液体积(μL)	蒸馏水体积(μL)	稀释后浓度(mg/mL)
1	10	100	900	1
2	1	200	800	0.2
3	1	100	900	0.1
4	0.1	250	250	0.05
5	0.1	200	300	0.04
6	0.1	150	350	0.03
7	0.1	100	400	0.02
8	0.1	50	450	0.01

实验中每个标准管需200μL标准溶液。

5．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。标准曲线只需做1-2次。

6．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。空白管只需做1-2次。

三、淀粉含量计算

1、标准曲线绘制：

根据标准管的浓度(x，mg/mL)和吸光度ΔA标准(y，ΔA标准)，建立标准曲线。根据标准曲线， 将ΔA′代入方程得到x（mg/mL)。

2、淀粉含量计算：

淀粉含量(mg/g 质量)=x×V提取÷W÷1. 11×F =0.811x÷W×F

V提取： 提取后体积，0.9mL；W：样本质量，g；F：样品稀释倍数；1.11：是此法测的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 0.03g 小麦种子进行样本处理，取上清液，用蒸馏水稀释 128 倍进行实验，之后按照测定步骤操作，测得计算 ΔA′=A 测定-A 空白=0.929-0.106=0.823，标准曲线 y=4.9517x-0.0756，计算 x=0. 181，按样本质量计算含量得：

淀粉含量(mg/g 质量)=0.811x÷W×F =0.811×0. 181÷0.03×128=628 mg/g 质量。