

植物淀粉含量测试盒说明书

(货号: A148-1-1 蒽酮比色法 50T/48 样)

免责声明: 测试前请仔细阅读说明书, 测试后再进行批量实验, 否则由此导致的后果用户自行承担!

一、测定原理:

利用 80% 乙醇可以把样品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, 再用蒽酮比色法对葡萄糖进行定量, 从而计算出相关淀粉的含量。

三、试剂组成与配制: (试剂盒有效期 6 个月)

试剂一: 50mL×1 瓶, 无色透明液体, 4℃ 保存;

试剂二: 30mL×1 瓶, 无色透明液体, 4℃ 保存;

试剂三: 粉剂×2 支, 4℃ 避光保存。临用前取一支粉剂, 倒入烧杯中, 加入 3.5mL 蒸馏水, 稍微搅拌后, 缓慢加入 21.5mL 浓硫酸, 边加入边搅拌, 充分溶解配成应用液, 密封避光保存 (颜色发黑后弃用);

试剂四: 标准品粉剂 10mg×1 瓶, 4℃ 保存; 使用时依次往一瓶标准品粉剂中加入 0.5mL 蒸馏水和 6.5mL 试剂二, 震荡混匀溶解, 再用蒸馏水定容至 20mL 即为 **0.5mg/mL 标准应用液**, 4℃ 保存, 取部分再用蒸馏水 10 倍稀释即为 **0.05mg/mL 标准应用液**。

四、自备仪器或用品:

可见分光光度计及 1mL 容量比色皿、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、1cm 光径比色皿、研钵、蒸馏水。

五、测定意义:

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。

六、操作步骤:

1、样本前处理:

- 准确称取 0.1g 样本(干样只需称取 0.01g~0.02g), 加试剂一 1mL, 8000 转/分, 机械匀浆破碎 15 秒, 间隔 30 秒, 重复 3 次。80℃ 水浴提取 20 分钟, 4000 转/分, 离心 5 分钟, 去上清留沉淀;
- 往沉淀中加入 0.5mL 蒸馏水, 95℃ 糊化 15 分钟;
- 糊化后冷却静置, 加入试剂二 0.35mL, 95℃ 水浴 10 分钟。(每 5 分钟取出混匀 1 次);
- 完成后加入 0.85mL 蒸馏水, 震荡混匀充分, 4000 转/分钟, 离心 10 分钟, 取上清液即为**样本上清液**, 待测。(样本上清液一般需要稀释后才能进行下表操作, 具体稀释倍数需取个别样进行预试来确定 (预试结果以测定 OD 值 - 空白 OD 值在 0.5 左右为宜), 如新鲜土豆制备成样本上清液后, 一般用蒸馏水 50-100 倍稀释后再进行下表操作)

2、操作表:

	空白管	标准管	测定管
蒸馏水 (mL)	0.2		
0.05mg/mL 标准应用液 (mL)		0.2	
样本上清液 (mL)			0.2
试剂三应用液 (mL)	1.0	1.0	1.0

混匀后, 95℃ 水浴 10 分钟, 常温水浴冷却至室温, 分光光度计 620nm 处蒸馏水调零, 测定各管吸光度值 A。

七、计算:

$$\text{淀粉含量} = \frac{A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}}{A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}} \times C_{\text{标准}} \times V_{\text{提}} \times N \div W$$

mg / g 组织

$C_{\text{标准}}$: 标准液浓度, 0.05mg/mL;

$V_{\text{提}}$: 样本前处理完的总液体体积, 1.7mL;

N : 样本上清液稀释倍数;

W : 样本鲜重, g。

八、注意事项:

- 匀浆完可用 1-2mL 80% 的乙醇清洗匀浆机切头, 清洗后的清洗液并入该样本匀浆液中离心;

- 匀浆时尽量充分, 否则会由于较大颗粒中的糖分无法分离, 进入样本上清从而使测定值升高;
- 操作时, 试剂三应用液加入时尽量缓慢, 否则易产生沸腾现象使管中液体冲出, 伤到人体;
- 操作可用 2mL 规格离心管, 加完试剂盖上盖后 95℃ 反应时不用扎孔, 比色前先混匀再比色;
- 实验时务必戴好手套防止硫酸飞溅伤害人体;

附录: 标准曲线的制备

1、前处理:

将 0.5mg/mL 的标准液用蒸馏水稀释成 S1(0.00625mg/mL)、S2(0.0125mg/mL)、S3(0.025mg/mL)、S4(0.05mg/mL)、S5(0.1mg/mL) 的浓度进行标准曲线的制备。

2、操作表:

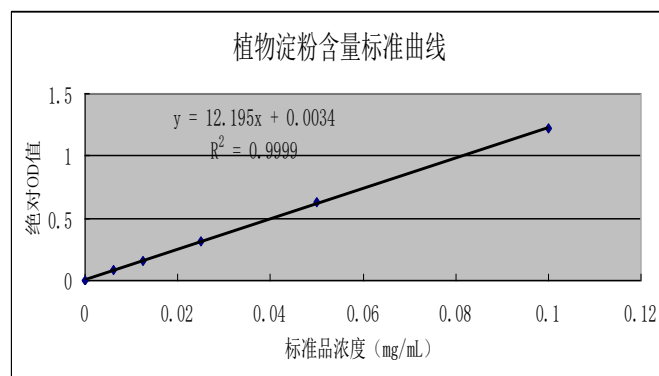
编号	S0	S1	S2	S3	S4	S5
不同浓度的标准液 (mL)		0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
蒸馏水 (mL)	0.2					
试剂三应用液 (mL)	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0

混匀后, 95℃ 水浴 10 分钟, 常温水浴冷却至室温, 分光光度计 620nm 处蒸馏水调零, 测定各管吸光度值

3、测定结果:

标准液浓度 (mg/mL)	吸光度值	绝对吸光度值
0	0.039	0
0.00625	0.118	0.079
0.0125	0.193	0.154
0.025	0.348	0.309
0.05	0.662	0.623
0.1	1.257	1.218

绘图如下:



标准曲线可以不做。如需制作标准曲线, 则计算时将计算公式中的

$$\frac{A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}}{A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}} \times C_{\text{标准}}$$

用标准曲线计算值代替, 其它项不变。