**淀粉含量测定试剂盒说明书（货号：PYB2061,规格：100T）**

1. **实验原理：**

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。

1. **试剂组份**：

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 试剂名称 | 规格 | 保存条件 |
| 试剂一 | 液体65mL×1瓶 | 2-8℃保存 |
| 试剂二 | 液体65mL×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1mL蒸馏水使其溶解，制备10mg/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2.625mL蒸馏水后，缓慢加入14.875mL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。

1. **使用步骤：**

**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．分光光度计或酶标仪预热30min以上，调节波长至620nm，分光光度计蒸馏水调零。

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0.4、0.2、0.1、0.05、0.04、0.03、0.02mg/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 | 400 | 600 | 0.4 |
| 3 | 1 | 200 | 800 | 0.2 |
| 4 | 1 | 100 | 900 | 0.1 |
| 5 | 0.1 | 250 | 250 | 0.05 |
| 6 | 0.1 | 200 | 300 | 0.04 |
| 7 | 0.1 | 150 | 350 | 0.03 |
| 8 | 0.1 | 100 | 400 | 0.02 |

实验中每个标准管需50µL标准溶液。

5．标准品测定：取50μL标准溶液（蒸馏水做空白）和250μL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，取200μL至96孔板或微量玻璃比色皿中，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50μL样本和250μL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，取200μL至微量玻璃比色皿/96孔板中，在620nm波长下测定吸光度值A测定。计算ΔAˊ=A测定-A空白。标准曲线和空白管只需做1-2次

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：样本稀释倍数；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。

1. **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。