

植物淀粉含量

<编号: ml076678 可见分光光度法 50 管/48 样>

注 意: 正式测定前务必取 3 - 5 个预期差异较大的样本做预测定

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。

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, 采用蒽酮比色法测定葡萄糖含量, 即可计算淀粉含量。

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、玻璃比色皿、研钵、冰、浓盐酸、浓硫酸 (不允许快递) 和蒸馏水。

试剂的组成和配制:

试剂一: 液体 50mL×1 瓶, 4℃保存;

试剂二: 粉剂×1 瓶, 4℃保存;

淀粉提取：

- 1、建议称取约 0.1g 新鲜样本或取 0.1mL 液体样本于研钵中研碎，加入 1mL 试剂一，充分匀浆后转移到 EP 管中，80℃水浴提取 30min，离心 5min (3000g 离心力 25℃)，弃上清，留沉淀。
- 2、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℃提取 15min，振荡 3-5 次。
- 4、加入 0.85mL 蒸馏水，混匀，离心 10min (3000g 离心力 25℃)，取上清液待测。

注意：如样本为淀粉含量较高的干样，为保证充分提取，可适当减小取样量，如称取 0.01g~0.02g 干样，加入 1mL 试剂一，其余提取步骤同上。

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、**工作液的配制：**临用前在试剂二中加入 7.5mL 蒸馏水后，缓慢加入 42.5mL 浓硫酸，不断搅拌，充分溶解，待用；用不完的试剂 4℃保存一周；
- 4、在EP管中依次加入：

试剂名称 (μL)	测定管
样本	200
工作液	1000
95 度水浴 10 min (盖紧，防止水分散失)，自然冷却至室温，在 620 nm 波长下记录测定吸光度值 A。	

淀粉含量计算:

标准条件下测定的回归方程为 $y = 5.872x - 0.0295$;

x 为标准品浓度 (mg/mL), y 为吸光值。

1、按照蛋白浓度计算

$$\begin{aligned}\text{淀粉含量(mg/mg prot)} &= [(A+0.0295) \times V1] \div 5.872 \div (V1 \times Cpr) \\ &= 0.17 \times (A+0.0295) \div Cpr\end{aligned}$$

2、按样本鲜重计算

$$\begin{aligned}\text{淀粉含量(mg/g 鲜重)} &= [(A+0.0295) \times V1] \div 5.872 \div (W \times V1 \div V2) \\ &= 0.289 \times (A+0.0295) \div W\end{aligned}$$

3、按样本体积计算

$$\begin{aligned}\text{淀粉含量(mg/mL)} &= [(A+0.0295) \times V1] \div 5.872 \div (V3 \times V1 \div V2) \\ &= 2.89 \times (A+0.0295)\end{aligned}$$

V1: 加入反应体系中样本体积, 0.2mL; V2: 加入提取液体积, 1.7 mL; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; W: 样本质量, g; V3: 样本体积, 0.1mL

注意:

1. 由于工作液具有强腐蚀性, 请谨慎操作。
2. 若吸光值大于2, 淀粉提取步骤(4)的上清液用提取液稀释后再测定, 计算公式中乘以相应的稀释倍数。提取液的配置: 0.35mL 浓盐酸+1.35mL水。用多少按照此比例配多少。
3. 最低检测限为 10μg/g 鲜重或 100ng/mg prot。

预实验的意义:

比色法检测试剂盒预实验非常重要

- 1、确定该试剂盒是否适合客户的样本检测, 以免造成试剂盒和样本的浪费 (比如低表达处理的样本);
- 2、熟悉生化试剂盒的操作流程, 尤其是初次使用生化试剂盒测定;
- 3、确定样本的处理方法及稀释倍数是否合适;
- 4、了解实验过程中可能出现的实验现象或问题, 以便于及时作出调整;
- 5、通过 3 - 5 组预实验, 判断试剂盒对于样本的最佳适应稀释浓度范围, 指导实验样本稀释比例。