

抗性淀粉和非抗性淀粉含量(酶法)试剂盒说明书

(货号: BN72321 微板法 96样)

一、产品简介:

本试剂盒利用α-胰淀粉酶和淀粉葡糖苷酶使非抗性淀粉水解成 D-葡萄糖,剩余的沉淀即为样品中的抗性淀粉,利用强碱溶液溶解抗性淀粉,再利用淀粉葡糖苷酶将其进一步水解成葡萄糖。通过检测葡萄糖含量得到非抗性淀粉和抗性淀粉的含量。

二、试剂盒的组成和配制:

試剂名称 規格	٠,	はいり、11.1 11.1 11.1 12.1 12.1 14.1 14.1 14.1							
試剂二 粉剂 mg×2 瓶 4°C保存 临用前甩几下使粉剂落入底部,每瓶加22mL 试剂一持续混匀 5min,再加0.02mL 试剂七混匀,4000rpm 离心10min,取上清保存备用。 试剂三 自备 4°C保存 50%乙醇: 90mL 无水乙醇加入 90mL 蒸馏水,混匀,备用。 试剂四 液体 23mL×1 瓶 4°C保存 试剂五 自备 4°C保存 试剂六 液体 90mL×1 瓶 4°C保存 试剂七 液体 1.2mL×1 支 4°C保存 试剂力 空瓶×1 瓶 4°C保存 试剂力 粉剂 mg×2 支 4°C保存 试剂十 液体 40mL×1 瓶 4°C保存 域剂十 液体 40mL×1 瓶 4°C保存 扩入 整温干燥保存 扩入 整温干燥保存		试剂名称	规格	保存要求	备注				
試剂二 粉剂 mg×2 瓶 4°C保存 22mL 试剂一持续混匀 5min,再加 0.02mL 试剂七混匀,4000rpm 离心 10min,取上清保存备用。 试剂三 自备 4°C保存 50%乙醇:90mL 无水乙醇加入 90mL 蒸馏水,混匀,备用。 试剂五 自备 4°C保存 0.1M 乙酸-乙酸钠 PH4.5 (配制见附录) 试剂六 液体 90mL×1 瓶 4°C保存 用前甩几下使液体试剂落入底部。 试剂七 液体 1.2mL×1 支 4°C保存 临用前加入 0.1mL 试剂七和 5.4mL 试剂一幅用前甩几下使粉剂落入底部。每支再加 2.1mL 蒸馏水溶解备用。 试剂十 液体 40mL×1 瓶 4°C保存 准确称取 2mg 标准品(葡萄糖)至一新 EP管中,再加 1mL 试剂五充分溶解即得 2mg/mL 标准品,再用试剂五稀释 4 倍至 0.5mg/mL 备用。(该标准品粉体开封后也需		试剂一	液体 60mL×1 瓶	4℃保存					
試剂二 粉剂 mg×2 瓶 4℃保存 試剂七混匀,4000rpm 离心 10min,取上清保存备用。 試剂三 自备 4℃保存 50%乙醇:90mL 无水乙醇加入90mL 蒸馏水,混匀,备用。 试剂四 液体 23mL×1 瓶 4℃保存 0.1M 乙酸-乙酸钠 PH4.5 (配制见附录) 试剂五 自备 4℃保存 0.1M 乙酸-乙酸钠 PH4.5 (配制见附录) 试剂六 液体 90mL×1 瓶 4℃保存 用前甩几下使液体试剂落入底部。 试剂十 液体 1.2mL×1 支 4℃保存 临用前加入 0.1mL 试剂七和 5.4mL 试剂一 试剂力 粉剂 mg×2 支 临用前甩几下使粉剂落入底部,每支再加 2.1mL 蒸馏水溶解备用。 2.1mL 蒸馏水溶解备用。 试剂十 液体 40mL×1 瓶 4℃保存 准确称取 2mg 标准品(葡萄糖)至一新 EP管中,再加 1mL 试剂五充分溶解即得 2mg/mL 标准品,再用试剂五稀释 4 倍至 0.5mg/mL 备用。(该标准品粉体开封后也需		试剂二	粉剂 mg×2 瓶	4℃保存	临用前甩几下使粉剂落入底部,每瓶加				
試剂七混匀, 4000rpm 离心 10min, 取上清保存备用。					22mL 试剂一持续混匀 5min,再加 0.02mL				
试剂三 自备 4°C保存 50%乙醇: 90mL 无水乙醇加入 90mL 蒸馏水,混匀,备用。 试剂四 液体 23mL×1 瓶 4°C保存 0.1M 乙酸-乙酸钠 PH4.5 (配制见附录) 试剂五 自备 4°C保存 0.1M 乙酸-乙酸钠 PH4.5 (配制见附录) 试剂六 液体 90mL×1 瓶 4°C保存 用前甩几下使液体试剂落入底部。 试剂十 空瓶×1 瓶 4°C保存 临用前加入 0.1mL 试剂七和 5.4mL 试剂一临用前甩几下使粉剂落入底部,每支再加 2.1mL 蒸馏水溶解备用。 试剂十 液体 40mL×1 瓶 4°C保存 准确称取 2mg 标准品(葡萄糖)至一新 EP管中,再加 1mL 试剂五充分溶解即得 2mg/mL 标准品,再用试剂五稀释 4 倍至 0.5mg/mL 备用。(该标准品粉体开封后也需					试剂七混匀,4000rpm 离心 10min,取上清				
試剂三 自备 4°C保存 試剂四 液体 23mL×1 瓶 4°C保存 試剂五 自备 4°C保存 試剂六 液体 90mL×1 瓶 4°C保存 試剂七 液体 1.2mL×1 支 4°C保存 試剂人 空瓶×1 瓶 4°C保存 域剂力 粉剂 mg×2 支 临用前加入 0.1mL 试剂七和 5.4mL 试剂一 临用前甩几下使粉剂落入底部,每支再加 2.1mL 蒸馏水溶解备用。 2.1mL 蒸馏水溶解备用。 域剂十 液体 40mL×1 瓶 4°C保存 本确称取 2mg 标准品(葡萄糖)至一新 EP管中,再加 1mL 试剂五充分溶解即得2mg/mL 标准品,再用试剂五稀释 4 倍至0.5mg/mL 标准品,再用试剂五稀释 4 倍至0.5mg/mL 备用。(该标准品粉体开封后也需					保存备用。				
		试剂三	自备	4℃保存	50%乙醇: 90mL 无水乙醇加入 90mL 蒸馏				
试剂五 自备 4℃保存 0.1M 乙酸-乙酸钠 PH4.5 (配制见附录) 试剂六 液体 90mL×1 瓶 4℃保存 试剂七 液体 1.2mL×1 支 4℃保存 试剂八 空瓶×1 瓶 4℃保存 临用前加入 0.1mL 试剂七和 5.4mL 试剂一 临用前甩几下使粉剂落入底部,每支再加 2.1mL 蒸馏水溶解备用。 试剂十 液体 40mL×1 瓶 4℃保存 标准品 粉体 mg×1 支 准确称取 2mg 标准品 (葡萄糖)至一新 EP 管中,再加 1mL 试剂五充分溶解即得 2mg/mL 标准品,再用试剂五稀释 4 倍至 0.5mg/mL 备用。(该标准品粉体开封后也需					水,混匀,备用。				
试剂六 液体 90mL×1 瓶 4℃保存 试剂七 液体 1.2mL×1 支 4℃保存 用前甩几下使液体试剂落入底部。 试剂八 空瓶×1 瓶 4℃保存 临用前加入 0.1mL 试剂七和 5.4mL 试剂一 临用前甩几下使粉剂落入底部,每支再加 2.1mL 蒸馏水溶解备用。 1mL 蒸馏水溶解备用。 2mL 蒸馏水溶解备用。 核体 40mL×1 瓶 4℃保存 2mg 标准品(葡萄糖)至一新 EP 管中,再加 1mL 试剂五充分溶解即得 2mg/mL 标准品,再用试剂五稀释 4 倍至 0.5mg/mL 备用。(该标准品粉体开封后也需		试剂四	液体 23mL×1 瓶	4℃保存					
试剂七 液体 1.2mL×1 支 4℃保存 用前甩几下使液体试剂落入底部。 试剂八 空瓶×1 瓶 4℃保存 临用前加入 0.1mL 试剂七和 5.4mL 试剂一 试剂九 粉剂 mg×2 支 4℃保存 临用前甩几下使粉剂落入底部,每支再加 2.1mL 蒸馏水溶解备用。 试剂十 液体 40mL×1 瓶 4℃保存 室温干燥保存 准确称取 2mg 标准品(葡萄糖)至一新 EP 管中,再加 1mL 试剂五充分溶解即得 2mg/mL 标准品,再用试剂五稀释 4 倍至 0.5mg/mL 备用。(该标准品粉体开封后也需		试剂五	自备	4℃保存	0.1M 乙酸-乙酸钠 PH4.5 (配制见附录)				
试剂人 空瓶×1 瓶 4℃保存 临用前加入 0.1mL 试剂七和 5.4mL 试剂一 试剂九 粉剂 mg×2 支 4℃保存 临用前甩几下使粉剂落入底部,每支再加 2.1mL 蒸馏水溶解备用。 试剂十 液体 40mL×1 瓶 4℃保存 准确称取 2mg 标准品(葡萄糖)至一新 EP 管中,再加 1mL 试剂五充分溶解即得 2mg/mL 标准品,再用试剂五稀释 4 倍至 0.5mg/mL 备用。(该标准品粉体开封后也需		试剂六	液体 90mL×1 瓶	4℃保存					
試剂九 粉剂 mg×2 支 4°C保存 临用前甩几下使粉剂落入底部,每支再加 2.1mL 蒸馏水溶解备用。 試剂十 液体 40mL×1 瓶 4°C保存 标准品 粉体 mg×1 支 室温干燥 保存 准确称取 2mg 标准品(葡萄糖)至一新 EP 管中,再加 1mL 试剂五充分溶解即得 2mg/mL 标准品,再用试剂五稀释 4 倍至 0.5mg/mL 备用。(该标准品粉体开封后也需		试剂七	液体 1.2mL×1 支	4℃保存	用前甩几下使液体试剂落入底部。				
試剂九 粉剂 mg×2 支 4°C保存 試剂十 液体 40mL×1 瓶 4°C保存 本确称取 2mg 标准品(葡萄糖)至一新 EP 管中,再加 1mL 试剂五充分溶解即得 2mg/mL 标准品,再用试剂五稀释 4 倍至 0.5mg/mL 备用。(该标准品粉体开封后也需		试剂八	空瓶×1 瓶	4℃保存	临用前加入 0.1mL 试剂七和 5.4mL 试剂一				
		试剂九	粉剂 mg×2 支	4℃保存	临用前甩几下使粉剂落入底部,每支再加				
本					2.1mL 蒸馏水溶解备用。				
标准品 粉体 mg×1 支 室温干燥 保存 管中,再加 lmL 试剂五充分溶解即得 2mg/mL 标准品,再用试剂五稀释 4 倍至 0.5mg/mL 备用。(该标准品粉体开封后也需		试剂十	液体 40mL×1 瓶	4℃保存					
标准品 粉体 mg×1 支		标准品	粉体 mg×1 支	, ,,,,,	准确称取 2mg 标准品(葡萄糖)至一新 EP				
标准品 粉体 mg×1 支 保存 2mg/mL 标准品,再用试剂五稀释 4 倍至 0.5mg/mL 备用。(该标准品粉体开封后也需					管中, 再加 1mL 试剂五充分溶解即得				
0.5mg/mL 备用。(该标准品粉体开封后也需					2mg/mL 标准品,再用试剂五稀释 4 倍至				
干燥保存和使用)					0.5mg/mL 备用。(该标准品粉体开封后也需				
					干燥保存和使用)				

三、所需的仪器和用品:

酶标仪、96 孔板、水浴锅、可调式移液器、研钵、**乙醇、冰乙酸、乙酸钠、冰水浴 和蒸馏水**。

四、抗性和非抗性淀粉含量测定:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定,熟悉实验流程,避免实验样本和试剂浪费! 1、 样本制备:

抗性淀粉待测液制备:

- ① 取 1-5g 样本烘干 (50℃) 至恒重,磨碎并过筛 (如 0.5mm 筛)得到待检均匀粉末样本,取 10mg 粉末至 2mLEP 管中,(**若样本含糖,需先除糖**:向沉淀中加入 1mL 的 80%乙醇,室温静置 30min(间隔 5min 振荡混匀一次),5000rpm 室温离心 10min,弃上清留沉淀,室温条件下待乙醇挥发完 (也可用吸水纸除干净乙醇)(**整个除糖过程不能高温**)),再向 EP 管中加 0.4mL 试剂二,涡旋,水平放置于震荡培养箱中,37℃、200rpm 往复震荡培养 16 小时(下午 4 点至次日上午 8 点)。
- ② 取出加入 0.4mL 无水乙醇, 涡旋震荡, 5000rpm 室温离心 10min, 收集上清至 10mL 管



子里。向沉淀中加入 0.2mL 试剂三,涡旋,再加 0.6mL 试剂三,涡旋混匀,5000rpm 室温离心 10min,小心收集全部上清液至 10mL 管子里,重复操作一次。

- ③ **在冰浴条件下**,向有沉淀的 EP 管中,一边用手震荡一边缓慢加入 0.2mL 试剂四,震荡直到完全溶解,冰浴或者放置 4℃冰箱 10min。取出加入 0.8mL 试剂六,颠倒混匀 (不能涡旋),立即加入 10μL 试剂七混匀后,50℃孵育 30min(间歇混匀 5-6 次)。
- ④ 孵育完成后冷却至室温,对于 RS<10%的样本,直接 3000rpm 室温离心 5min; RS>10%的样本,用蒸馏水稀释 10 倍后再离心。

非抗性淀粉待测液制备:

抗性淀粉检测液制备操作步骤②中收集到的上清液,用试剂五定容至 10mL,即为非抗性淀粉待测液。

2、上机检测:

- ① 酶标仪预热 30min 以上,调节波长至 510nm。
- ② 试剂八、九、十预先解冻至室温(25℃)。
- ③ 在96孔板中依次加入:

试剂名称	抗性淀粉	非抗性淀粉	空白管	标准管		
(µL)	测定管	测定管	(仅做一次)	(仅做一次)		
	10μL	10μL		10μL		
	抗性淀粉上清液	非抗性淀粉上清液		0.5mg/mL 葡萄糖		
试剂五	50		60	50		
试剂八		50				
混匀,50℃下,避光温育 20min						
试剂九	20	20	20	20		
试剂十	200	200 200		200		
混匀,50℃下,避光温育 20min,于 510nm 处读取吸光值 A。						

五、结果计算:

1、按样本干重计算:

抗性淀粉含量(mg/g 干重)=(C 标准×V3)×(A 抗性淀粉-A 空白)÷(A 标准-A 空白)÷(W×V3÷V1)×D×162÷180

=0.505×(A 抗性淀粉-A 空白)÷(A 标准-A 空白)÷W×D×162÷180

非抗性淀粉含量(mg/g 干重)=(C 标准×V3)×(A 非抗性淀粉-A 空白)÷(A 标准-A 空白)÷(W×V3÷V2)×162÷180

=5×(A 非抗性淀粉-A 空白)÷(A 标准-A 空白)÷W×162÷180

总淀粉含量(mg/g 干重)=抗性淀粉含量+非抗性淀粉含量

V1---抗性淀粉待检液体积, 1.01mL;

V2---非抗性淀粉待检液体积, 10 mL;

V3---显色反应中上清液体积, 0.01mL;

D---稀释倍数,未稀释即为1;

C 标准---0.5mg/mL 葡萄糖;

W---样本质量, g。

附录: 0.1M 乙酸-乙酸钠 PH4.5 试剂配制:

A 母液 (0.2mol/L 乙酸溶液): 量取 5.775mL 冰乙酸,稀释至 500mL。

B 母液 (0.2mol/L 乙酸钠溶液): 称取 8.2g 无水乙酸钠 (Mr=82.04) 或者 13.61g 三水合乙酸钠 (Mr=136.09) 溶解,定容至 500mL。

取 A 母液 51.0mL, B 母液 49.0mL, 混合, 用 A 母液调节 PH 值至 4.5 后, 用蒸馏水定容至 200mL。 (可根据实际需要量同比例缩小或扩增)

本产品仅用于科研