



抗性淀粉含量(酶法)测定试剂盒

可见分光光度法

货号: R43985-48S

产品简介:

本试剂盒利用 α -胰淀粉酶和淀粉葡萄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, 再利用淀粉葡萄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抗性淀粉的含量。

试剂盒的组成和配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	液体35mL×1瓶	4℃保存	
试剂二	粉剂mg×1瓶	4℃保存	临用前甩几下使粉剂落入底部, 加22mL试剂一持续混匀5min, 再加0.02mL试剂七混合, 4000rpm离心10min, 取上清保存备用。
试剂三	自备	4℃保存	50%乙醇: 45mL无水乙醇加入45mL蒸馏水, 混匀, 备用。
试剂四	液体12mL×1瓶	4℃保存	
试剂五	自备0.5L	4℃保存	0.1M乙酸-乙酸钠PH4.5(配制见附录)
试剂六	液体45mL×1瓶	4℃保存	
试剂七	液体0.7mL×1支	4℃保存	用前甩几下使液体试剂落入底部。
试剂八	液体3.5mL×1支	4℃保存	
试剂九	液体35mL×1瓶	4℃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干燥保存和使用)

所需的仪器和用品:

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿(光径1cm)、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。

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100目筛)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, 弃上清, 留沉淀。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, 弃上清, 留沉淀, 再重复操作一次。

③在冰浴条件下, 向上述有沉淀的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10 μ L 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。

2、上机检测:

①可见分光光度计预热30min以上, 调节波长至510nm, 蒸馏水调零。

②试剂八、九预先解冻至室温(25℃)。

③在EP管中依次加入:

试剂名称(μ L)	抗性淀粉测定管	空白管(仅做一次)	标准管(仅做一次)
	30 μ L抗性淀粉上清液		30 μ L 0.5mg/mL葡萄糖
试剂五	100	130	100
试剂八	60	60	60
试剂九	650	650	650



混匀, 50℃下, 避光温育20min, 全部液体转移至1mL玻璃比色皿(光径1cm), 于510nm处读取吸光值A。

结果计算:

1、按样本干重计算:

$$\begin{aligned} \text{抗性淀粉含量(mg/g 干重)} &= (C \text{ 标准} \times V_2) \times (A \text{ 抗性淀粉} - A \text{ 空白}) \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \\ &\div (W \times V_2 \div V_1) \times D \times 162 \div 180 \\ &= 0.505 \times (A \text{ 抗性淀粉} - A \text{ 空白}) \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \div W \times D \times 162 \div 180 \end{aligned}$$

V1---抗性淀粉待检液体积, 1.01mL;

V2---显色反应中上清液体积, 0.03mL;

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)