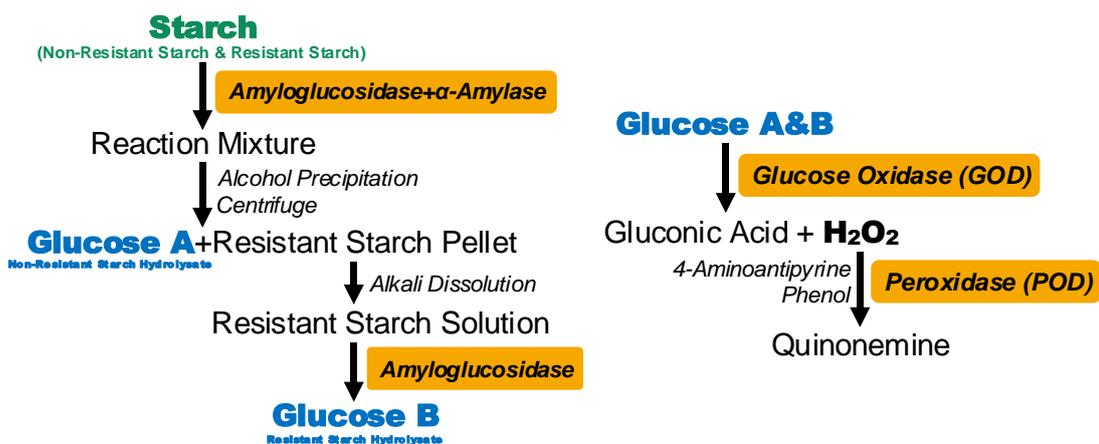




抗性淀粉和非抗性淀粉含量检测试剂盒

Resistant & Non-Resistant Starch Content Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



抗性淀粉和非抗性淀粉含量检测试剂盒

Resistant & Non-Resistant Starch Content Assay Kit

一、产品描述

抗性淀粉 (Resistant Starch, RS) 是健康个体小肠中不被吸收的淀粉及其降解产物的总称, 其在结肠中可以被微生物发酵产生短链脂肪酸, 从而发挥调节血糖、胆固醇以及促进肠道毒素分解等作用。抗性淀粉具有多种健康益处, 包括降低血糖和胰岛素反应、改善肠道健康、预防结肠癌等。抗性和非抗性淀粉在消化过程中的不同特性使其在食品加工、营养学研究和健康评估中具有重要的应用价值。

通过 α -淀粉酶和淀粉葡萄糖苷酶将样本中非抗性淀粉水解为葡萄糖, 反应混合液中加入醇沉试剂后离心, 上清液为非抗性淀粉水解液, 收集沉淀即为抗性淀粉, 使用碱溶液将抗性淀粉溶解后, 利用淀粉葡萄糖苷酶将其水解为葡萄糖, 即为抗性淀粉水解液; 使用 GOD-POD 法分别测定抗性淀粉水解液和非抗性淀粉水解液中葡萄糖的生成量, 即可定量检测抗性淀粉和非抗性淀粉的含量。

二、产品内容

| 名称 | 试剂规格 | 储存条件 | 使用说明及注意事项 |
|---|--------------------------|----------|--|
| 试剂一 | 液体 50 mL×1 瓶 | 4°C 保存 | - |
| 试剂二 | 粉剂×1 瓶 | -20°C 保存 | 使用前加入 6 mL 试剂一充分溶解 (分装后-20°C可保存 1 个月, 避免反复冻融) |
| 试剂三 | 液体 50 mL×1 瓶 | 4°C 保存 | - |
| 试剂四 | 液体 50 mL×1 瓶 | 4°C 保存 | - |
| 试剂五 | 液体 120 mL×1 瓶 | 4°C 保存 | 使用前需 2-8°C 预冷 30 min 以上 (测定过程持续置于冰上放置) |
| 试剂六 | 液体 60 mL×1 瓶 | 4°C 保存 | - |
| 试剂七 | 液体 840 μ L×1 支 | 4°C 保存 | - |
| 试剂八 | 液体 20 mL×1 瓶 | 4°C 保存 | - |
| 试剂九 | 液体 20 mL×1 瓶 | 4°C 保存 | - |
| 标准品 | 粉剂×1 支 (10 mg 葡萄糖标准品) | 4°C 保存 | 使用前加入 1 mL 蒸馏水充分溶解 (即为 10 mg/mL 葡萄糖标准液) |
| 标准应用液的制备 (现用现配): 使用前将 10 mg/mL 葡萄糖标准液使用蒸馏水稀释 10 倍至 1 mg/mL 即为标准应用液。 | | | |

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：酶标仪、96孔板、研钵/组织研磨仪、30-50目筛、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱、磁力搅拌转子（B型 5×10 mm）、磁力搅拌器、往复式恒温水浴摇床、2 mL 离心管、5 mL 离心管和 50 mL 离心管。

1. 淀粉水解液的制备（可根据预实验结果适当调整样本量及比例）

1.1 非抗性淀粉水解液的制备

- ①新鲜样本自然风干或 37°C 烘箱风干，研磨或粉碎后过 30-50 目筛；
- ②称取 20 mg 风干过筛后样本至 2 mL 离心管中，加入 **700 μL 试剂一**充分混匀，37°C 孵育 5 min；
- ③反应结束加入 **100 μL 试剂二**充分混匀，37°C 直线往复式振荡 4 h（密封以防止液体损失）；

注：37°C 直线往复式振荡 4 h，需要使用往复式恒温水浴摇床或直线往复式振荡仪（可参考使用 200 r/min 转速），切勿使用旋涡振荡混匀，否则会影响酶解效果。

④反应结束加入 **800 μL 试剂三**充分混匀，8000 g 常温离心 10 min；收集全部上清至新的 5 mL 离心管中留存，记为上清液 A（收集过程切勿损失沉淀且切勿丢弃上清）；

⑤第④步离心沉淀中加入 **800 μL 试剂四**充分混匀，8000 g 常温离心 10 min，收集全部上清至上清液 A 中合并（约 2.4 mL），即为**非抗性淀粉水解液**（收集过程切勿损失沉淀且切勿丢弃上清）；收集沉淀即为抗性淀粉，用于后续抗性淀粉水解。

1.2 抗性淀粉水解液的制备

①上述抗性淀粉沉淀中加入 **2 mL 预冷试剂五**，缓慢吹打混匀至沉淀完全溶解，全部转移至 50 mL 离心管中，每个离心管中均加入 1 个磁力搅拌转子，置于磁力搅拌器上，设定转速 200 r/min，冰浴搅拌溶解 20 min，即为**溶解液**；

注：沉淀溶解后存在透明凝胶物质属于正常现象，搅拌后溶液澄清透明且无不溶物即可；溶解过程可同时制备多个 50 mL 离心管，同时置于磁力搅拌器中进行溶解。

②吸取 **250 μL 溶解液**至 2 mL 离心管中，加入 **1 mL 试剂六**充分振荡混匀，加入 **14 μL 试剂七**充分混匀，50°C 恒温反应 30 min，15000 g 常温离心 10 min，取上清即为**抗性淀粉水解液**。

2.测定步骤

- ①酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 510 nm。
- ②检测工作液的制备（现配现用）：根据使用量按照试剂八：试剂九=1:1 的体积比配制。
- ③在离心管中依次加入下列试剂

| 试剂 | 测定管 1 (μL) | 测定管 2 (μL) | 标准管 (μL) | 空白管 (μL) |
|----------|----------------------------|----------------------------|--------------------------|--------------------------|
| 非抗性淀粉水解液 | 10 | - | - | - |
| 抗性淀粉水解液 | - | 10 | - | - |
| 标准应用液 | - | - | 10 | - |
| 蒸馏水 | - | - | - | 10 |
| 检测工作液 | 300 | 300 | 300 | 300 |

充分混匀，50°C反应 20 min，冷却至室温

吸光值测定：吸取 200 μL 反应液至 96 孔板中，测定 510 nm 处吸光值，记为 A1 测定、A2 测定、A 标准和 A 空白；计算 $\Delta A1 \text{ 测定} = A1 \text{ 测定} - A \text{ 空白}$ ， $\Delta A2 \text{ 测定} = A2 \text{ 测定} - A \text{ 空白}$ ， $\Delta A \text{ 标准} = A \text{ 标准} - A \text{ 空白}$ 。注：标准管和空白管只需测定 1-2 次。

3.非抗性淀粉、抗性淀粉和总淀粉含量计算

$$\text{①非抗性淀粉含量 (mg/g)} = \frac{C \text{ 标} \times \Delta A1 \text{ 测定} \times V1 \times 0.9 \times D}{\Delta A \text{ 标准} \times W} = \frac{2.16 \times \Delta A1 \text{ 测定} \times D}{W \times \Delta A \text{ 标准}}$$

$$\text{②抗性淀粉含量 (mg/g)} = \frac{C \text{ 标} \times \Delta A2 \text{ 测定} \times V2 \times V3 \times 0.9 \times D}{\Delta A \text{ 标准} \times W \times V4} = \frac{9.1 \times \Delta A2 \text{ 测定} \times D}{W \times \Delta A \text{ 标准}}$$

$$\text{③总淀粉含量 (mg/g)} = \text{非抗性淀粉含量} + \text{抗性淀粉含量}$$

注释： C 标：葡萄糖标准应用液浓度，1 mg/mL； V1：非抗性淀粉水解液总体积，2.4 mL； V2：抗性淀粉水解液制备过程中加入试剂五的体积，2 mL； V3：抗性淀粉水解液总体积，1.264 mL； V4：抗性淀粉水解液制备过程中吸取溶解液的体积，0.25 mL； 0.9：葡萄糖含量换算为淀粉含量的常数； W：样本质量，g； D：水解液稀释倍数，若未稀释则为 1。

四、注意事项

①若 ΔA_1 测定大于 ΔA 标准，建议将非抗性淀粉水解液使用蒸馏水适当稀释后再进行测定，计算时乘以相应稀释倍数即可；

②若 ΔA_2 测定大于 ΔA 标准，建议将抗性淀粉水解液使用试剂五适当稀释后再进行测定，计算时乘以相应稀释倍数即可；

③为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取2-3个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

Notes:

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.
Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

