

麦芽糖含量测定试剂盒说明书（显色法）

（货号：ADS-W-TDX031 微板法 48 样）

一、产品简介：

麦芽糖是碳水化合物的一种，由含淀粉酶的麦芽作用于淀粉而制得。可直接食用，也可用作营养剂配制培养基。

麦芽糖被 α -糖苷酶分解产生两分子的葡萄糖，葡萄糖被特异性氧化以产生与显色剂反应的（粉）红色产物，该产物在520nm有最大吸收峰，进而得到麦芽糖含量。

二、试剂盒组成和配制：

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	液体 2 支冻存管	-20°C保存	用前每支冻存管先用几下或离心后，加入 0.35mL 试剂五混匀，再全部转移至 2mLEP 管中，再用 1mL 试剂五涮洗冻存管后转移至该 2mLEP 管中（试剂五共 1.35mL）。配制好的试剂可-20°C分装冻存。
试剂二	液体 2 支冻存管	-20°C保存	用前每支冻存管先用几下或离心后，加入 0.3mL 试剂六混匀，再全部转移至 2mLEP 管中，再用 1mL 试剂六涮洗冻存管后转移至该 2mLEP 管中（试剂六共 1.3mL）。配制好的试剂可-20°C分装冻存。
试剂三	粉剂 1 支	-20°C保存	用前甩几下或离心，使粉剂落入底部，再加 1.1mL 蒸馏水混匀备用。
试剂四	液体 22mL×1 瓶	4°C保存	
试剂五	液体 3mL×1 支	4°C保存	
试剂六	液体 3mL×1 支	4°C保存	
标准品	粉剂 1 支	4°C保存	用前甩几下或离心，加 1mL 蒸馏水溶解，即 10mg/mL 麦芽糖标准品，再用蒸馏水稀释 10 倍成 1mg/mL 标准品（待检测）。

三、所需的仪器和用品：

酶标仪、96 孔板、离心机、可调式移液器、研钵、冰和蒸馏水。

四、麦芽糖含量测定：

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定，了解本批样品情况，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费！

1、样本制备：

① 组织样本：0.1g 组织样本（水分充足的样本建议取 0.2g 左右），加 1mL 的蒸馏水研磨，粗提液全部转移到 EP 管中，12000rpm，常温离心 10min，上清液待测。注：若组织样本蛋白含量很高，可先进行脱蛋白处理。

【注】做实验前可以选取几个样本，找出适合本次检测样本的稀释倍数 D，某些发芽谷物样本中含麦芽糖量较高，可稀释 2-10 倍。

② 液体样品：近似中性的澄清液体样本可直接检测；若为酸性样本则需先用 2M NaOH 调 PH 值约 7.4，然后室温静置 30min，取澄清液体直接检测。

【注】可选取几个样本，进行不同倍数的稀释，选取适合本次样本的稀释倍数 D。

2、上机检测:

- ① 酶标仪预热 30 min 以上, 调节波长到 520nm。
- ② 所有试剂解冻至室温 (25°C)。为了减少操作误差, 建议使用排枪。
- ③ 标准品浓度制备参看说明书第二部分中标准品配制, 依次在 96 孔板中加入:

试剂名称 (μL)	测定管	对照管	标准管 (只做一次)	空白管 (只做一次)
样本	10	10		
标准品			10	
蒸馏水				10
试剂一	50		50	50
试剂二		50	50	50
混匀, 室温 (25°C) 孵育30min。				
试剂三	10	10	10	10
试剂四	200	200	150	150
混匀, 室温 (25°C) 避光反应20min, 于520nm处读取各管的A值 (直到A值不变)。 $\Delta A = A_{\text{测定}} - (A_{\text{对照}} - A_{\text{空白}})$ (每个样本需做一个自身对照)。				

- 【注】1.若A测定大于1.5, 或 ΔA 大于0.6, 可对样本用蒸馏水进行稀释, 则稀释倍数D则代入公式参与计算。
2.若 ΔA 低于0.01, 可增加样本加样量V1: 如30 μL , 则试剂四相应减少。则改变后的V1代入公式重新计算。

五、结果计算:

1、按照质量计算:

$$\begin{aligned} \text{麦芽糖含量}(\text{mg/g 鲜重}) &= (C_{\text{标准}} \times V1) \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div (W \times V1 \div V) \times D \\ &= 1 \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div W \times D \end{aligned}$$

2、按照体积计算:

$$\begin{aligned} \text{麦芽糖含量}(\text{mg/mL}) &= (C_{\text{标准}} \times V1) \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div V1 \times D \\ &= 1 \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times D \end{aligned}$$

C 标准---麦芽糖标准品的浓度, 1mg/mL; V1---加入样本体积, 0.01mL;
V---加入提取液体积, 1mL; W---样本鲜重, g;
D---稀释倍数, 未稀释即为 1。