

麦芽糖含量测定试剂盒说明书（显色法）

（货号：BP10308W 微板法 48 样 有效期：3 个月）

一、指标介绍：

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、测试盒组成和配制：

试剂组分	试剂规格	存放温度	注意事项
试剂一	液体 2 支	-20℃保存	每支： 1. 临用前每支冻存管 8000g 4° C 离心 2min 使试剂落入管底（可手动甩一甩）； 2. 加入 0.35mL 试剂五混匀，再全部转移至 2mLEP 管中； 3. 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）； 4. 配制好的试剂可-20℃分装冻存。
试剂二	液体 2 支	-20℃保存	每支： 1. 临用前每支冻存管 8000g 4° C 离心 2min 使试剂落入管底（可手动甩一甩）； 2. 加入 0.3mL 试剂六混匀，再全部转移至 2mLEP 管中； 3. 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）； 4. 配制好的试剂可-20℃分装冻存。
试剂三	粉剂 1 支	-20℃避光保存	1. 临用前 8000g 4° C 离心 2min 使粉剂落入管底（可手动甩一甩）； 2. 加入 1.1mL 蒸馏水混匀备用； 3. 保存周期与试剂盒有效期相同。
试剂四	液体 22mL×1 瓶	4℃避光保存	
试剂五	液体 3mL×1 瓶	4℃避光保存	
试剂六	液体 3mL×1 瓶	4℃避光保存	
标准品	粉剂 1 支	4℃保存	1. 临用前 8000g 4° C 离心 2min 使粉剂落入管底（可手动甩一甩）； 2. 加 1mL 蒸馏水溶解，即 10mg/mL 麦芽糖标准品； 3. 再用蒸馏水稀释 10 倍成 1mg/mL 标准品（待检测）； 4. 保存周期与试剂盒有效期相同。

三、实验器材：

酶标仪、96孔板、离心机、可调式移液器、研钵、冰和蒸馏水。

四、指标测定：

建议先选取1-3个差异大的样本（例如不同类型或分组）进行预实验，熟悉操作流程，根据预实验结果确定或调整样本浓度，以防造成样本或试剂不必要的浪费！

1、样本提取：

- 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、检测步骤：

- ① 酶标仪预热30min以上，调节波长到520nm。
- ② 所有试剂解冻至室温（25℃）。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：

试剂组分 (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℃）孵育30min。				
试剂三	10	10	10	10
试剂四	200	200	150	150
混匀，室温（25℃）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30μL，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：

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

3、按照蛋白浓度计算：

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

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；

Cpr---蛋白浓度（mg/mL）； 建议使用本公司的 BCA 蛋白含量检测试剂盒。