

麦芽糖含量测定试剂盒说明书（显色法）

（货号：ADS-F-TDX031 分光法 24 样 有效期：3 个月）

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、测试盒组成和配制：

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	液体×2 支	-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 使试剂落入管底（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 40mL×1 瓶	4℃避光保存	
试剂五	液体 3mL×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 使试剂落入管底（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 20 倍成 0.5mg/mL 标准品（待检测）； 4. 保存周期与试剂盒有效期相同。

三、所需的仪器和用品：

研钵（匀浆机）、冰盒（制冰机）、台式离心机、可调式移液枪、水浴锅（烘箱、培养箱、金属浴）、1ml 比色皿、离心管、分光光度计、蒸馏水（去离子水、超纯水均可）。

四、指标测定：

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 可见分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 520nm，蒸馏水调零。
② 所有试剂解冻至室温（25℃）。
③ 标准品浓度制备参看说明书第二部分中标准品配制，在 EP 中依次加入：

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	30	30		
标准品			30	
蒸馏水				30
试剂一	100		100	100
试剂二		100	100	100
混匀，室温（25℃）孵育30min。				
试剂三	20	20	20	20
试剂四	600	600	500	500
混匀，室温（25℃）避光反应20min，全部液体转移至1mL比色皿中，于520nm处读取各管的A值。 $\Delta A = A_{\text{测定}} - (A_{\text{对照}} - A_{\text{空白}})$ (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0.8，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60μL，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：

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

C 标准---麦芽糖标准品的浓度, 0.5mg/mL; V1---加入样本体积, 0.03mL;
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。