

麦芽糖含量测定试剂盒说明书（显色法）

（分光法 24 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 $\mu\text{L}\times 1$ 支	-20 $^{\circ}\text{C}$ 保存	临用前甩几下或离心，使粉体落入底部，再加 2.7mL 试剂六混匀备用
试剂二	液体 0.6mL $\times 1$ 支	-20 $^{\circ}\text{C}$ 保存	临用前甩几下或离心，使液体落入底部，再加 2.1mL 试剂七混匀备用
试剂三	粉剂 mg $\times 1$ 支	-20 $^{\circ}\text{C}$ 保存	临用前甩几下或离心，使粉剂落入底部，再加 1.1mL 蒸馏水混匀备用
试剂四	液体 30mL $\times 1$ 瓶	4 $^{\circ}\text{C}$ 保存	
试剂五	液体 7mL $\times 1$ 瓶	4 $^{\circ}\text{C}$ 保存	
试剂六	液体 3mL $\times 1$ 支	4 $^{\circ}\text{C}$ 保存	
试剂七	液体 3mL $\times 1$ 支	4 $^{\circ}\text{C}$ 保存	
标准品	粉剂 mg $\times 1$ 支	4 $^{\circ}\text{C}$ 保存	临用前加 1mL 蒸馏水溶解，即 1mg/mL 麦芽糖溶液

三、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、台式离心机、可调式移液器、研钵

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 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 $^{\circ}\text{C}$ ）。
 ③ 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	
试剂二		100		
混匀，室温（25℃）孵育30min。				
试剂三	20	20	20	20
试剂四	410	410	410	510
试剂五	140	140	140	140
混匀，室温（25℃）避光反应30min，全部液体转移至1mL比色皿中，于520nm处读取各管的A值。ΔA=A测定-A对照（每个样本需做一个自身对照）。				

【注】若A测定大于1.5，则对样本进行适当稀释，在计算时乘以相应的稀释倍数D。

五、结果计算：

1、按照质量计算：

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

2、按照体积计算：

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

C 标准---麦芽糖标准品的浓度，1mg/mL；

V1---加入样本体积，0.03mL；

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。