

麦芽糖含量测定试剂盒说明书（显色法）

（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 $\mu\text{L}\times 1$ 支	-20℃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℃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℃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 8mL $\times 1$ 瓶	4℃保存	
试剂五	液体 8mL $\times 1$ 瓶	4℃保存	
试剂六	液体 3mL $\times 1$ 支	4℃保存	
试剂七	液体 3mL $\times 1$ 支	4℃保存	
标准品	粉剂 mg $\times 1$ 支	4℃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：

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℃）。
- ③ 为了减少操作误差，建议使用排枪。
- ④ 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	
试剂二		50		
混匀，室温（25℃）孵育30min。				
试剂三	10	10	10	10
试剂四	60	60	60	110
试剂五	70	70	70	70
混匀，室温（25℃）避光反应30min，于520nm处读取各管的A值（直到A值不变）。 $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ （每个样本需做一个自身对照）。				

【注】若A测定大于1，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：

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

2、按照体积计算：

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

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。