麦芽糖含量测定试剂盒说明书（显色法）

（货号：G0566W 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、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μL×2 支冻存管	-20℃保存	用前每支冻存管先甩几下或离心后，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℃分装冻存。
试剂二	液体μL×2 支冻存管	-20℃保存	用前每支冻存管先甩几下或离心后，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℃分装冻存。
试剂三	粉剂 mg×1 支	-20℃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℃保存	
试剂五	液体 3mL×1 支	4℃保存	
试剂六	液体 3mL×1 支	4℃保存	
标准品	粉剂 mg×1 支	4℃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℃）。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℃）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）。△A=A测定-（A对照-A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△A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：

麦芽糖含量(mg/g 鲜重)=(C 标准×V1)×△A÷(A 标准-A 空白)÷(W×V1÷V) ×D

=1×△A÷(A 标准-A 空白)÷W×D

2、按照体积计算：

麦芽糖含量(mg/mL)=(C 标准×V1)×△A÷(A 标准-A 空白)÷V1×D

=1×△A÷(A 标准-A 空白)×D

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。