

## 麦芽糖含量试剂盒说明书

微量法 100 管/48 样

**注 意：**正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

### 测定意义：

麦芽糖是由两个葡萄糖单位经由  $\alpha$ -1, 4 糖苷键连接而成的二糖，又称麦芽二糖。麦芽糖是淀粉、糖原、糊精等大分子多糖类物质在  $\beta$ -淀粉酶催化下的主要水解产物，再经麦芽糖酶催化，则被水解成两个葡萄糖分子。麦芽糖不仅参与了生物体内糖代谢，其在食品和医药工业等行业也有着广泛应用，是产品质量控制的重要指标之一。

### 测定原理：

麦芽糖酶将样品中麦芽糖水解为葡萄糖；葡萄糖氧化酶催化葡萄糖氧化成葡萄糖酸，并产生过氧化氢；过氧化物酶催化过氧化氢氧化 4-氨基安替比林偶联酚，生成有色化合物，在 505 nm 有特征吸收峰。

### 需自备的仪器和用品：

酶标仪、水浴锅、可调式移液器、96 孔板、研钵、冰、和蒸馏水。

### 试剂的组成和配制：

试剂一：液体 70mL×1 瓶，4℃保存；

试剂二：粉剂×1 瓶，4℃保存；临用前加 6 mL 试剂一溶解后待用，用不完的试剂分装后-20℃ 保存；

试剂三：液体 10ml×1 瓶，4℃保存； 试剂四：液体 10ml×1 瓶，4℃保存； 麦芽糖提取：

按照样本质量（g）：试剂一体积（mL）为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL 试剂一），研磨成匀浆，95℃水浴 10 分钟（盖紧，防止水分散失），冷却后，8000g，25℃离心 10min，取上清液备用。

### 测定步骤：

- 1、酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 505nm。
- 2、混合试剂的配制：使用前将试剂三和试剂四 1:1 等体积混合，用多少配多少。
- 3、测定管：取 200  $\mu$ L 上清，加入 100  $\mu$ L 试剂二，混匀，55℃反应 60 min，待测。对照管：200  $\mu$ L 上清，加入 100  $\mu$ L 试剂一，混匀，55℃反应 60 min，待测。
- 4、加样表（在 96 孔板中加入下列试剂）：

试剂（ $\mu$ L）	测定管	对照管
测定管待测液	40	
对照管待测液		40
混合试剂	160	160

混匀，40℃保温 30 min 后，于 505nm 波长处读取吸光度。测定管和对照管吸光值分别记为 A 测定和 A 对照。 $\Delta A=A$  测定管-A 对照管。每个测定管设一个对照管。

**麦芽糖含量计算：**

标准条件下测定回归方程为  $y = 2.8944x + 0.0052$ ； $R^2 = 0.9997$ ；为标准品浓度（mg/mL）， $y$  为吸光值差值。

麦芽糖（mg/g 鲜重） $= (\Delta A - 0.0052) \div 2.8944 \times V_{\text{总}} \div W = 0.3455 \times (\Delta A - 0.0052) \div W$

$V_{\text{总}}$ ：加入提取液体积，1 mL； $W$ ：样本质量，g