（本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断！）

产品货号：E-BC-K756-M

产品规格：96T(40 samples)

检测仪器：酶标仪(500-510 nm)

Elabscience®麦芽糖比色法测试盒

Maltose Colorimetric Assay Kit

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

电话：400-999-2100

邮箱：biochemical@elabscience.cn

网址：www.elabscience.cn

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。

联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

用途

本试剂盒适用于检测植物组织样本中麦芽糖的含量。

检测原理

麦芽糖(Maltose)是由两分子的葡萄糖以 α-1，4 糖苷键连接而成的二糖，又称麦芽二糖。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。

麦芽糖被酶分解产生两分子的葡萄糖，葡萄糖与显色剂反应生成显色物质，可呈现颜色变化，在 505 nm 下有特征吸收峰，其颜色的深浅与麦芽糖含量成正比。

提供试剂和物品

编号	名称	规格 (Size)(96T)	保存方式(Storage)
试剂一 (Reagent 1)	提取液 (Extraction Solution)	60 mL×1 瓶	2-8°C 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	酶试剂 (Enzyme Regent)	粉剂×2 瓶	2-8°C 避光保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	显色剂 A (Chromogenic Agent A)	10 mL×1 瓶	2-8°C 避光保存 6 个月
试剂四 (Reagent 4)	显色剂 B (Chromogenic Agent B)	10 mL×1 瓶	2-8°C 避光保存 6 个月
试剂五 (Reagent 5)	标准品 (Standard)	粉剂×2 支	2-8°C 保存 6 个月
	酶标板	96 孔×1 板	无要求
	96 孔覆膜	2 张	
	样本位置标记表	1 张	

说明：试剂严格按上表中的保存条件保存，不同测试盒中的试剂不能混用。

对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。

所需自备物品

仪器：酶标仪(500-510 nm，最佳检测波长 505 nm)、匀浆机、恒温箱、恒温水浴锅。

试剂准备

① 检测前，试剂盒中的试剂平衡至室温(25°C)。

② 试剂二工作液配制：

取一瓶试剂二，加入3 mL试剂一混合均匀，未用完的试剂二工作液可2-8°C避光保存7天。

③ 2 mg/mL标准品配制：

取一支试剂五，使用5 mL试剂一溶解均匀，即可得2 mg/mL标准品，未用完的2 mg/mL标准品可2-8°C保存7天。

④ 不同浓度标准品的稀释：

编号	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧
标准品浓度(mg/mL)	**0**	**0.1**	**0.2**	**0.3**	**0.4**	**0.6**	**0.8**	**1**
2 mg/mL 标准品(μL)	0	10	20	30	40	60	80	100
试剂一(μL)	200	190	180	170	160	140	120	100

样本准备

① 样本处理

植物组织样本：按照样本质量(g)：试剂一体积(mL)=1:9 的比例匀浆(如称取 0.1 g 的组织样本，加入 0.9 mL 的试剂一)。95°C 水浴加热 5 min，流水冷却至室温(25°C)，10000 ×g 离心 10 min，取上清液待测。

② 样本的稀释

在正式检测前，需选择2-3个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验，结合本试剂盒的检测范围：0.01-1.00 mg/mL，不同样本的稀释如下表(仅供参考)：

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
10%土豆组织匀浆	2-5	10%白菜叶匀浆	2-5
10%红薯组织匀浆	2-5	10%玉米种子匀浆	2-5

注：稀释液为试剂一

操作步骤

酶促反应

① 标准管：取 100 μL 不同浓度标准品加入相应的 EP 管中；

对照管：取 100 μL 待测样本加入相应的 EP 管中；

测定管：取 100 μL 待测样本加入相应的 EP 管中。

② 向步骤①中的对照管加入 50 μL 试剂一；

向步骤①中的标准管和测定管加入 50 μL 试剂二工作液。

③ 混匀，55°C 孵育 60 min 后制成酶反应液(盖紧，防止水分散失)。

显色反应

① 取 20 μL 酶反应液于相应的酶标孔中。

② 向各酶标孔中加入 90 μL 试剂三和 90 μL 试剂四。

③ 混匀，37°C 孵育 30 min，505 nm 测定各孔吸光度记为 A，计算 $\Delta A = A_{测定} - A_{对照}$。

操作表

酶促反应

	标准管	对照管	测定管
不同浓度标准品(μL)	100	--	--
待测样本(μL)	--	100	100
试剂一(μL)	--	50	--
试剂二工作液(μL)	50	--	50
充分混匀，55°C 反应 60 min 后制成酶反应液(盖紧，防止水分散失)。			

显色反应

	标准孔	对照孔	测定孔
酶反应液(μL)	20	20	20
试剂三(μL)	90	90	90
试剂四(μL)	90	90	90
混匀，37°C 孵育 30 min，505 nm 测定各孔吸光度记为 A，计算 $\Delta A = A_{测定} - A_{对照}$			

结果计算

标准品拟合曲线： $y = ax + b$

植物组织样本中麦芽糖含量计算公式：

$$\text{麦芽糖含量 (mg/g wet weight)} = \frac{\Delta A - b}{a} \div \frac{m}{V} \times f$$

注解：

y：标准品 OD 值-空白 OD 值(标准品浓度为 0 时的 OD 值)

x：标准品的浓度

a：标曲的斜率

b：标曲的截距

ΔA：$A_{测定}$-$A_{对照}$

m：待测样本的质量，g

V：匀浆时加入试剂一的体积，mL

f：样本加入检测体系前的稀释倍数

附录1 关键数据

1. 技术参数

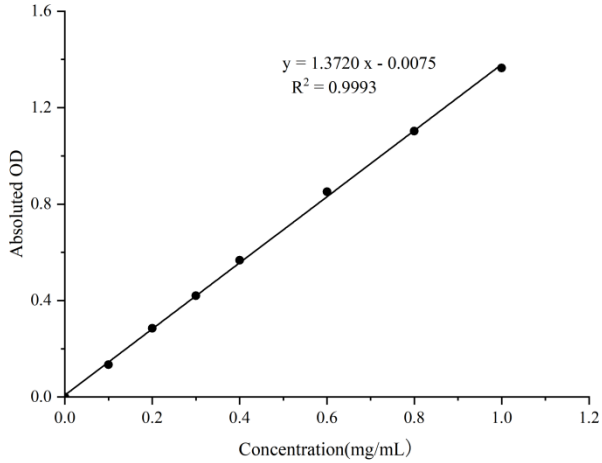
检测范围	0.01-1.00 mg/mL	**批间差**	2.5-5.0%
灵敏度	0.01 mg/mL	**批内差**	1.5-4.5%
加标回收率	93-105%		

2. 标准曲线(数据仅供参考)

① 不同浓度标准品上样量100 μL，按照操作步骤进行实验，OD值如下表所示：

标准品浓度(mg/mL)	**0**	**0.1**	**0.2**	**0.3**	**0.4**	**0.6**	**0.8**	**1**
OD 值	0.054	0.189	0.340	0.477	0.622	0.922	1.139	1.402
	0.062	0.195	0.346	0.480	0.628	0.897	1.183	1.444
平均 OD 值	0.058	0.192	0.343	0.478	0.625	0.910	1.161	1.423
绝对 OD 值	0	0.134	0.285	0.420	0.567	0.851	1.103	1.365

② 绘制标曲(如下图)：



附录2 实例分析

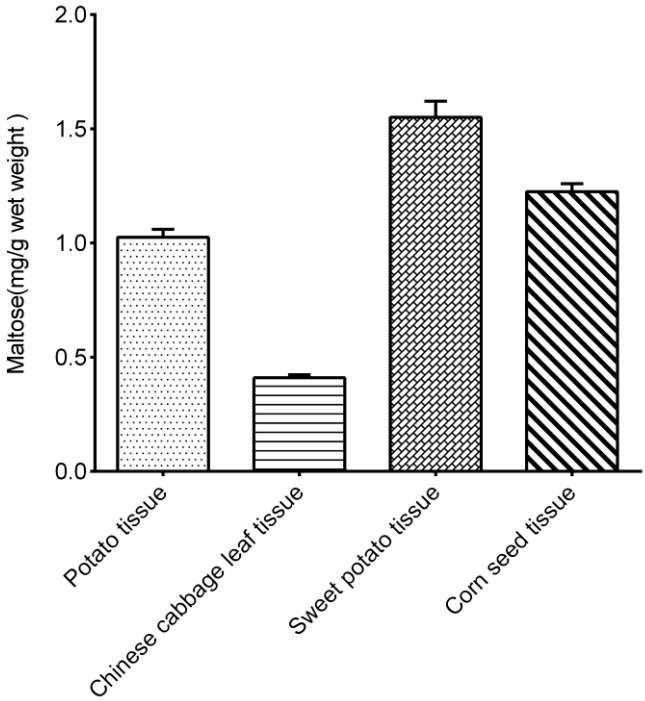
例如检测红薯组织(数据仅供参考):

取100 μL稀释2倍的10%红薯组织上清液，按操作表操作，结果如下：标准曲线：y = 1.3720 x - 0.0075，对照孔平均OD值为0.545，测定孔平均值为0.656，计算结果为：

麦芽糖含量(mg/g wet weight) = (0.656 - 0.545 + 0.0075) ÷1.3720 ×(0.9 ÷0.1) ×2

= 1.55 mg/g wet weight

按说明书操作，测定土豆组织(10%匀浆稀释2倍，加样量100 μL)、白菜叶组织(10%匀浆稀释2倍，加样量100 μL)、红薯组织(10%匀浆稀释2倍，加样量100 μL)、玉米种子组织(10%匀浆稀释2倍，加样量100 μL)中的麦芽糖含量(如下图)：



声明

1. 试剂盒仅供研究使用，如将其用于临床诊断或任何其他用途，我公司将不对因此产生的问题负责，亦不承担任何法律责任。
2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器，严格按照说明书进行实验。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围。如果样品中待测物浓度过高或过低，请对样本做适当的稀释或浓缩。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中，建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责，不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责，使用前请充分考虑样本可能的使用量，预留充足的样本。