

(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](mailto:biochemical@elabscience.cn)

网址：[www.elabscience.cn](http://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 $\alpha$ -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 Reagent)	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 块	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( $\mu$ L)	0	10	20	30	40	60	80	100
试剂一( $\mu$ L)	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℃水浴加热 5 min，流水冷却至室温(25℃)，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  $\mu\text{L}$  不同浓度标准品加入相应的 EP 管中；  
对照管：取 100  $\mu\text{L}$  待测样本加入相应的 EP 管中；  
测定管：取 100  $\mu\text{L}$  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  $\mu\text{L}$  试剂一；  
向步骤①中的标准管和测定管加入 50  $\mu\text{L}$  试剂二工作液。
- ③ 混匀，55 $^{\circ}\text{C}$  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  $\mu\text{L}$  酶反应液于相应的酶标孔中。
- ② 向各酶标孔中加入 90  $\mu\text{L}$  试剂三和 90  $\mu\text{L}$  试剂四。
- ③ 混匀，37 $^{\circ}\text{C}$  孵育 30 min，505 nm 测定各孔吸光度记为 A，计算  $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。

测定 - A<sub>对照</sub>。

## 操作表

### 酶促反应

	标准管	对照管	测定管
不同浓度标准品( $\mu\text{L}$ )	100	--	--
待测样本( $\mu\text{L}$ )	--	100	100
试剂一( $\mu\text{L}$ )	--	50	--
试剂二工作液( $\mu\text{L}$ )	50	--	50
充分混匀，55 $^{\circ}\text{C}$ 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( $\mu\text{L}$ )	20	20	20
试剂三( $\mu\text{L}$ )	90	90	90
试剂四( $\mu\text{L}$ )	90	90	90
混匀，37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 30 min，505 nm 测定各孔吸光度记为 A，计算 $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。			

## 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：

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

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

$\Delta A$ :  $A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$

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

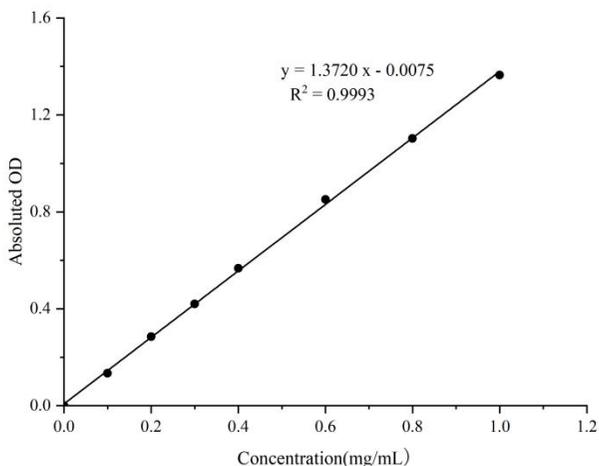
检测范围	0.01-1.00 mg/mL	批间差	2.5-5.0%
灵敏度	0.01 mg/mL	批内差	1.5-4.5%
加标回收率	93-105%		

### 2. 标准曲线(数据仅供参考)

① 不同浓度标准品上样量100  $\mu$ L, 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):



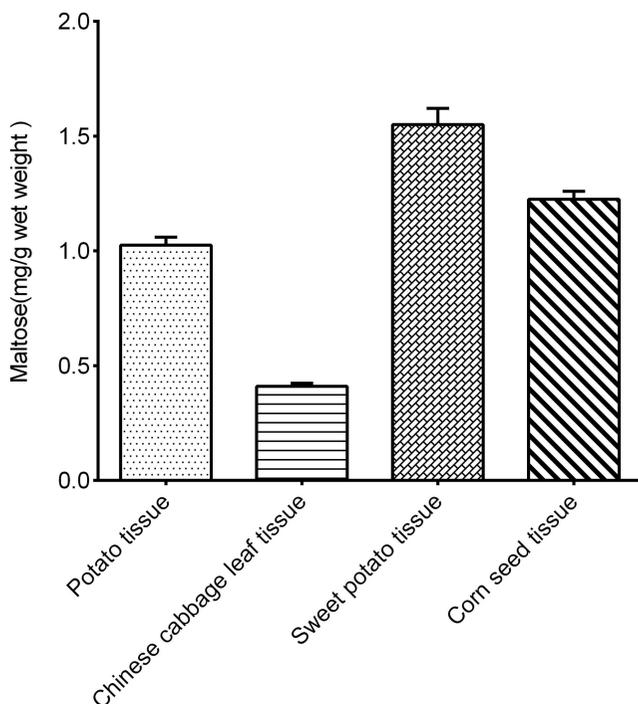
## 附录2 实例分析

例如检测红薯组织(数据仅供参考):

取100  $\mu\text{L}$  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:  $y = 1.3720x - 0.0075$ , 对照孔平均OD值为0.545, 测定孔平均值为0.656, 计算结果为:

$$\begin{aligned}\text{麦芽糖含量}(\text{mg/g wet weight}) &= (0.656 - 0.545 + 0.0075) \div 1.3720 \times (0.9 \div 0.1) \times 2 \\ &= 1.55 \text{ mg/g wet weight}\end{aligned}$$

按说明书操作, 测定土豆组织(10%匀浆稀释2倍, 加样量100  $\mu\text{L}$ )、白菜叶组织(10%匀浆稀释2倍, 加样量100  $\mu\text{L}$ )、红薯组织(10%匀浆稀释2倍, 加样量100  $\mu\text{L}$ )、玉米种子组织(10%匀浆稀释2倍, 加样量100  $\mu\text{L}$ )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。





