

## $\alpha$ -淀粉酶活性检测试剂盒（微量法）

产品货号：BA1012

产品规格：100管/48样

### 产品简介：

淀粉水解酶，包括 $\alpha$ -淀粉酶和 $\beta$ -淀粉酶。 $\alpha$ -AL (EC 3.2.1.1)随机催化淀粉中 $\alpha$ -1,4-糖苷键水解，生成葡萄糖、麦芽糖、麦芽三糖、糊精等还原糖，同时使淀粉的粘度降低，因此又称为液化酶。淀粉水解酶催化淀粉水解生成还原糖，还原糖还原3,5-二硝基水杨酸生成棕红色物质，在540nm有吸收峰；通过测定540nm吸光度增加速率，计算淀粉酶活性。 $\alpha$ -AL耐热，但是 $\beta$ -淀粉酶可在70℃钝化15min。因此粗酶液经过70℃钝化15min，就只有 $\alpha$ -AL能够催化淀粉水解。

**注意：**实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

### 产品内容：

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体20mL×1瓶	室温
试剂二	粉剂×1瓶	2-8℃
标准品	粉剂×1支	2-8℃

溶液的配制：

1. 试剂一：若有黄色晶体析出，需加热溶解后再用；
2. 试剂二：临用前加入10mL蒸馏水，置于常温水并加热至煮沸，期间不断搅拌粉剂至溶解；
3. 标准品：10mg无水葡萄糖。临用前加1mL蒸馏水，配成10mg/mL葡萄糖标准液。

### 需自备的仪器和用品：

酶标仪或可见分光光度计、恒温水浴锅、台式离心机、可调式移液器、96孔板/微量玻璃比色皿、研钵/匀浆器和蒸馏水。

### 操作步骤：

#### 一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

称取约0.1g样本，加0.8mL蒸馏水匀浆；匀浆后在室温下放置提取15min，每隔5min振荡1次，使其充分提取；6000g，室温离心10min，吸取上清液并且加蒸馏水定容至10mL，摇匀，即为淀粉酶原液。

#### 二、测定步骤

1. 分光光度计预热30min以上，调节波长到540nm，蒸馏水调零。
2. 将葡萄糖标准液用蒸馏水稀释为0.5、0.4、0.3、0.2、0.1mg/mL的标准溶液。
3. 取250 $\mu$ L样本沸水浴5min作为对照管使用。
4. 按照操作表依次加入各个试剂：

试剂 ( $\mu$ L)	对照管	测定管	标准管	空白管
$\alpha$ -淀粉酶原液	75 (煮沸样本)	75	-	-
蒸馏水	-	-	-	75
标准溶液	-	-	75	-

70℃水浴15min左右，冷却



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

试剂二	-	75	-	-
在40℃恒温水浴中准确保温5min				
试剂一	150	150	150	150
试剂二	75	-	75	75

混匀，沸水浴10min，取200 $\mu$ L至96孔板或微量比色皿中，540nm处读取对照管、测定管、标准管、空白管的吸光度，分别记为A对照、A测定、A标准和A空白，计算 $\Delta A_{测定}=A_{测定}-A_{对照}$ ， $\Delta A_{标准}=A_{标准}-A_{空白}$ 。

### 三、 $\alpha$ -淀粉酶活性计算

#### 1、标准曲线的绘制：

以 $\Delta A_{标准}$ 为y轴，以标准溶液浓度为x轴，绘制标准曲线，得到方程 $y=kx+b$ 。将 $\Delta A_{测定}$ 带入方程得到x (mg/mL)。

#### 2、 $\alpha$ -淀粉酶活性的计算：

##### (1) 按照样本质量计算

单位定义：每g组织每分钟催化产生1mg还原糖定义为1个酶活力单位。

$$\alpha\text{-淀粉酶活性(U/g质量)}=x \times V_{\text{样}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 2 \times x \div W$$

##### (2) 按照蛋白质浓度计算

单位定义：每mg组织蛋白每分钟催化产生1m 还原糖定义为1个酶活性单位。

$$\alpha\text{-淀粉酶活性(U/mg prot)}=x \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 0.2 \times x \div C_{\text{pr}}$$

V样：加入反应体系中样本体积，0.075mL；V样总：提取液总体积，10mL；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；

W：样本质量，g；T：反应时间，5min。

#### 注意事项：

测定的吸光值大于1.5时，可以对样本进行适当稀释后测定。若吸光值过小，可以浓缩淀粉酶稀释液或者淀粉酶原液。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com