

## β-淀粉酶活性检测试剂盒（可见分光光度法）

产品货号：BA1025

产品规格：50管/24样

### 产品说明：

淀粉酶负责水解淀粉，主要包括α-淀粉酶和β-淀粉酶。β-淀粉酶(EC 3.2.1.2) 从淀粉的非还原端切开α-1,4糖苷键，生成葡萄糖、麦芽糖、麦芽三糖、糊精等还原糖。

还原糖还原3,5-二硝基水杨酸生成棕红色物质。α-淀粉酶不耐酸，β-淀粉酶不耐热。根据上述特性，钝化其中之一，就可测出另一种淀粉酶的活力。

**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65mL×1瓶	室温
试剂二	粉剂×1瓶	4℃
标准品	粉剂×1支	4℃

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35mL蒸馏水，置于常温水浴中并加热至煮沸，期间不断搅拌粉剂至溶解。
3. 标准品：10mg无水葡萄糖。临用前加入1mL蒸馏水配制成10mg/mL的标准溶液。

### 需自备的仪器和用品：

可见分光光度计、恒温水浴锅、离心机、可调式移液器、1mL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，加入0.8mL蒸馏水，研磨匀浆；将匀浆倒入离心管中，提取液在室温下放置提取15min，每5min振荡1次，使其充分提取；6000g，常温离心10min，取上清液加蒸馏水定容至10mL，摇匀，即淀粉酶原液。

吸取上述淀粉酶原液1mL，加入4mL双蒸水，摇匀，即为淀粉酶稀释液，用于(α+β)淀粉酶总活力的测定。

#### 二、测定步骤

1. 分光光度计预热30min以上，调节波长至540nm，蒸馏水调零。
2. 将10mg/mL葡萄糖标准液用蒸馏水稀释为0.2、0.1、0.05、0.025、0.0125、0.00625mg/mL的标准溶液。
3. 取2支EP管分别加入250μL淀粉酶原液和淀粉酶稀释液，沸水浴5min，分别作为α-淀粉酶对照管和β-淀粉酶对照管使用。
4. 按操作表依次加入各试剂：

试剂名称 (μL)	α-淀粉酶活力测定		总淀粉酶活力测定		标准曲线的测定	
	对照管	测定管	对照管	测定管	空白管	标准管
淀粉酶原液	250（煮沸）	250	-	-	-	-
蒸馏水	-	-	-	-	250	-
标准溶液	-	-	-	-	-	250



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

扫一扫 加微信

70℃水浴15min左右，冷却						
淀粉酶稀释液	-	-	250（煮沸）	250	-	-
试剂二	-	250	-	250	-	-
在40℃恒温水浴中准确保温5min						
试剂一	500	500	500	500	500	500
试剂二	250	-	250	-	250	250

混匀，沸水浴10min，在540nm下测定吸光度，从左到右分别记为A1、A2、A3、A4、A5和A6，计算 $\Delta A_{\alpha} = A2 - A1$ ， $\Delta A_{\text{总}} = A4 - A3$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A6 - A5$ 。

### 三、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 $\Delta A_{\alpha}$ 测定带 入方程得到 $x_1$ （U/mL）， $\Delta A_{\text{总}}$ 代入方程得到 $x_2$ （mg/mL）。

#### 2. $\alpha$ -淀粉酶活性：

(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。

$$\alpha\text{-淀粉酶活性(U/g 质量)} = x_1 \times V_{\text{样}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 2 \times x_1 \div W$$

(2) 按照蛋白质含量计算

单位定义：每mg组织蛋白每分钟催化产生1mg还原糖定义为1个酶活性单位。

$$\alpha\text{-淀粉酶活性(U/mg prot)} = x_1 \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 0.2 \times x_1 \div C_{\text{pr}}$$

#### 3. 总淀粉酶活性计算：

(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。

$$\text{总淀粉酶活性 (U/g 质量)} = 5 \times x_2 \times V_{\text{样}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 10 \times x_2 \div W$$

(2) 按照蛋白质含量计算 单位定义：每mg组织蛋白每分钟催化产生1mg还原糖定义为1个酶活力单位。

$$\text{总淀粉酶活性(U/mg prot)} = 5 \times x_2 \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = x_2 \div C_{\text{pr}}$$

#### 4. $\beta$ -淀粉酶活性计算：

(1) 按照样本质量计算

单位定义：每g组织在反应体系中每分钟催化产生1mg还原糖定义为1个酶活力单位。

$$\beta\text{-淀粉酶活性 (U/g 质量)} = \text{淀粉酶总活性} - \alpha\text{-淀粉酶活性} = (10 \times x_2 \div W) - (2 \times x_1 \div W) = (10 \times x_2 - 2 \times x_1) \div W$$

(2) 按照蛋白质含量计算

单位定义：每mg组织蛋白在反应体系中每分钟催化产生1mg还原糖定义为1个酶活力单位。

$$\beta\text{-淀粉酶活性 (U/mg prot)} = \text{淀粉酶总活性} - \alpha\text{-淀粉酶活性} = (x_2 \div C_{\text{pr}}) - (0.2 \times x_1 \div C_{\text{pr}})$$

5：总淀粉酶稀释倍数，（4mL+1mL）/1mL=5；V样：加入反应体系中样本体积，0.25mL；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