

α -淀粉酶活性检测试剂盒 (碘-淀粉比色法) (可见分光光度法)

产品货号: BA1927

产品规格: 50T/24S

产品简介:

淀粉酶负责水解淀粉,包括 α -淀粉酶和 β -淀粉酶。 α -淀粉酶(EC 3.2.1.1)可随机地作用于淀粉中的 α -1,4-糖苷键,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。

α -淀粉酶催化淀粉分子中的 α -1,4糖苷键水解,产生葡萄糖、麦芽糖以及糊精等,碘可以与未被水解的淀粉结合,生成在570nm下有特征吸收峰的复合物,其深浅可计算出淀粉酶的活力单位。

α -AL耐热,但是 β -淀粉酶可在70℃钝化15min。因此粗酶液经过70℃钝化15min,就只有 α -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。

产品组成:

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	粉剂×1瓶	2-8℃
试剂二	液体10mL×1瓶	2-8℃
试剂三	液体30mL×1瓶	2-8℃
标准品	粉剂×1瓶	2-8℃

溶液的配制:

1. 试剂一: 临用前加入12.5mL试剂三,置于常温水中并加热至煮沸,期间不断搅拌粉剂至溶解,用不完的试剂2-8℃保存8周;
2. 标准品: 10mg淀粉标准品。临用前加10mL试剂三,置沸水浴中振荡溶解,配成1mg/mL淀粉标准液,2-8℃保存四周。

需自备的仪器和用品:

可见分光光度计、恒温水浴锅、台式离心机、可调式移液器、1mL玻璃比色皿、研钵/匀浆器、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)

1. 组织: 称取约0.1g样本,加1mL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,吸取上清液即为淀粉酶原液。
2. 液体: 直接检测。(若有浑浊则离心后进行测定)

二、测定步骤

1. 分光光度计预热30min以上,调节波长到570nm,蒸馏水调零。
2. 将淀粉标准液用蒸馏水稀释为0.2、0.1、0.05、0.025、0.0125、0.00625、0.003125、0.0015625mg/mL的标准溶液。



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

序号	稀释前浓度 (mg/mL)	标准液体积 (μL)	蒸馏水体积 (μL)	稀释后浓 (mg/mL)
1	1	200	800	0.2
2	0.2	500	500	0.1
3	0.1	500	500	0.05
4	0.05	500	500	0.025
5	0.025	500	500	0.0125
6	0.0125	500	500	0.00625
7	0.00625	500	500	0.003125
8	0.003125	500	500	0.0015625

3. 实验中每个标准管需250μL标准溶液。

4. 按操作表依次加入各试剂：

试剂 (μL)	测定管	对照管	空白管	标准管	标准空白管
α-淀粉酶原液	250	250	-	-	-
蒸馏水	-	-	250	-	250
标准溶液	-	-	-	250	-
70℃水浴15min左右，冷却					
试剂一	250	-	250	-	-
蒸馏水	-	250	-	250	250
试剂二	125	125	125	125	125
蒸馏水	375	375	375	375	375
混匀后于570nm处读取测定管、对照管、空白管、标准管、标准空白管吸光度，分别记为A测定、A对照、A空白、A标准和A标准空白，计算ΔA测定=A空白-(A测定-A对照)，ΔA标准=A标准-A标准空白。空白管和标准曲线只需做1-2次。					

三、α-淀粉酶活性计算

1. 标准曲线的绘制：

根据标准管的浓度 (x, mg/mL) 和吸光度ΔA标准 (y, ΔA标准)，建立标准曲线。根据标准曲线，将ΔA测定 (y, ΔA测定) 带入公式计算样本浓度 (x, mg/mL)。

2. α-淀粉酶活性计算

(1) 按照样本质量计算

单位定义：每g组织每分钟消耗1mg淀粉定义为1个酶活力单位。

$$\alpha\text{-淀粉酶活性 (U/g 质量)} = x \times V_{\text{样}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 0.1 \times x \div W$$

(2) 按照蛋白质浓度计算

单位定义：每mg组织蛋白每分钟消耗1mg淀粉定义为1个酶活性单位。

$$\alpha\text{-淀粉酶活性 (U/mg prot)} = x \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 0.1 \times x \div C_{\text{pr}}$$

(3) 按照液体体积计算

单位定义：每mL液体每分钟消耗1mg淀粉定义为1个酶活性单位。

$$\alpha\text{-淀粉酶活性 (U/mL)} = x \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样}} \div T = 0.1 \times x$$

V样：加入反应体系中样本体积，0.25mL；V样总：样本总体积，1mL；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；

W：样本质量，g；T：反应时间，10min。

注意事项：

1. 吸光值大于1.2或者ΔA大于0.8时，可以对样本进行适当稀释后测定。



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

QQ：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com