

## 土壤淀粉酶检测试剂盒（微量法）

产品货号：BA1321

产品规格：100管/48样

### 产品简介：

淀粉酶（EC3.2.1.1）是催化淀粉水解的一类酶的总称。土壤中的淀粉酶主要来自于微生物，是一种重要的酶制剂，广泛应用于粮食加工、食品、酿造、发酵、纺织品工业和医药行业。

淀粉酶水解淀粉产生还原糖，可与3,5-二硝基水杨酸反应生成红棕色物质，在540nm处有特征吸收峰，颜色深浅在一定范围内与还原糖量成正比。

**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	液体10mL×1瓶	4°C
试剂二	粉剂×1瓶	4°C
试剂三	液体20mL×1瓶	4°C
标准品	粉剂×1支	4°C

### 溶液的配制：

1. 试剂二：临用前加入5mL蒸馏水，置于常温水中并加热至煮沸，期间不断搅拌或震荡至粉剂溶解。
2. 标准品：10mg麦芽糖。临用前加入1.38mL蒸馏水配制成20 $\mu$ mol/mL的储备液。

### 需自备的仪器和用品：

天平、水浴锅、低温离心机、可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿/96孔板、30~50目筛、研钵、甲苯（不允许快递）。

### 操作步骤：

#### 一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可参考文献）

新鲜土样自然风干或37°C烘箱风干，过30~50目筛。

#### 二、测定步骤

1. 分光光度计/酶标仪预热30min，波长调至540nm，蒸馏水调零。
2. 将20 $\mu$ mol/mL的麦芽糖储备液用蒸馏水稀释为2、1、0.8、0.6、0.4 $\mu$ mol/mL的标准溶液备用。
3. 步骤：

试剂名称	测定管	对照管	标准管	空白管
土样（g）	0.05	0.05	-	-
甲苯（ $\mu$ L）	10	10	-	-
蒸馏水（ $\mu$ L）	-	100	-	-
试剂一（ $\mu$ L）	100	100	-	-
试剂二（ $\mu$ L）	100	-	-	-
充分震荡混匀，37°C水浴或37°C恒温箱培养24h，之后12000rpm，常温离心10min，取上清。			-	-



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司  
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

上清液 (μL)	60	60	-	-
蒸馏水 (μL)	-	-	-	60
标准溶液 (μL)	-	-	60	-
试剂三 (μL)	140	140	140	140

充分混匀，沸水浴10min，至冰上冷却，于微量玻璃比色皿/96孔板中测定540nm处的吸光值，分别记为A对照管、A测定管、A标准管和A空白管，计算 $\Delta A_{测定} = A_{测定管} - A_{对照管}$ ， $\Delta A_{标准} = A_{标准管} - A_{空白管}$ 。（A空白管只需测1-2次）

### 三、土壤淀粉酶活力的计算

#### 1. 标准曲线的绘制：

以标准溶液的浓度为 x 轴， $\Delta A$  标准为 y 轴绘制标准曲线，得到标准方程  $y=kx+b$ 。将 $\Delta A$  测定带入方程得到 x ( $\mu\text{mol/mL}$ )。

#### 2. 酶活的计算：

单位的定义：每天每 g 土样产生  $1\mu\text{mol}$  还原糖定义为一个土壤淀粉酶活力。

$$S\text{-AL (U/g 土样)} = x \times V_{反总} \div W \div T = 0.21 \times x \div W$$

V 反总：酶促反应总体积，0.21mL；W：土样质量，g；T：反应时间，1d。

#### 注意事项：

- 当 $\Delta A$  大于 1.5 时，建议将上清液稀释后再进行测定，注意在计算公式中乘以稀释倍数。
- 若 $\Delta A$  测定较小，增加反应的上清液体积或适当增加酶促反应时间，计算酶活时对公式进行修改。
- 建议每次实验煮沸后的冷却时间保持一致，吸光值请于 30min 内测定完成。

#### 实验实例：

- 取 0.05g 土样于 1.5mLEP 管中，依次加入  $10\mu\text{L}$  甲苯、 $100\mu\text{L}$  试剂一、 $100\mu\text{L}$  试剂二为测定管；取 0.05g 土样于 1.5mLEP 管中，依次加入  $10\mu\text{L}$  甲苯、 $100\mu\text{L}$  试剂一、 $100\mu\text{L}$  蒸馏水为对照管，均放于  $37^\circ\text{C}$  培养 24h，后离心取上清再液稀释 3 倍，之后按照测定步骤操作，用 96 孔板测得计算 $\Delta A = A_{测定管} - A_{对照管} = 0.948 - 0.12 = 0.828$ ，标准曲线： $y = 0.7604x - 0.158$ ， $x = 1.297$ ，按土样质量计算酶活得：  
 $S\text{-AL (U/g 土样)} = 0.21 \times x \div W \times 3$ （稀释倍数） $= 0.21 \times 1.297 \div 0.05 \times 3$ （稀释倍数） $= 16.34\text{U/g 土样}$ 。

#### 参考文献：

- [1] Kathiresan K, Manivannan S.  $\alpha$ -Amylase production by *Penicillium fellutanum* isolated from mangrove rhizosphere soil[J]. African journal of Biotechnology, 2006, 5(10).
- [2] Ebregt A, Boldewijn J. Influence of heavy metals in spruce forest soil on amylase activity, CO<sub>2</sub> evolution from starch and soil respiration[J]. Plant and Soil, 1977, 47(1): 137-148.



扫一扫 加微信

**上海尚宝生物科技有限公司**  
 Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com