

## $\beta$ -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: BA1925

产品规格: 50T/24S

### 产品简介:

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

碘可以与未被淀粉酶水解的淀粉结合, 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。 $\alpha$ -AL耐酸,  $\beta$ -AL不耐热。根据上述特性, 钝化其中之一, 就可测得另一种活性。



**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20mL×1瓶	2-8℃
试剂三	液体40mL×1瓶	2-8℃
标准品	粉剂×1瓶	2-8℃

### 溶液的配制:

- 试剂一: 临用前加入20mL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;
- 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)

- 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, 常温离心10min, 吸取上清液即为淀粉酶原液。
- 液体: 直接检测。(若有浑浊则离心后进行测定)。

#### 二、测定步骤

- 分光光度计预热30min以上, 调节双波长至570nm, 蒸馏水调零。
- 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。

序号	稀释前浓度 (mg/mL)	标准液体积 ( $\mu$ L)	蒸馏水体积 ( $\mu$ L)	稀释后浓度 (mg/mL)
1	1	200	800	0.2
2	0.2	500	500	0.1



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

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	0.0065
7	0.00625	500	500	0.003125
8	0.003125	500	500	0.0015625

备注：实验中每个标准管需250 $\mu$ L标准溶液。

### 3. 按操作表依次加入各试剂：

试剂名称 ( $\mu$ L)	$\alpha$ -淀粉酶活力测定		总淀粉酶活力测定		空白管5	标准曲线的测定	
	测定管1	对照管2	测定管3	对照管4		标准管6	标准空白管7
样本	250	250	-	-	-	-	-
蒸馏水	-	-	-	-	250	-	250
标准溶液	-	-	-	-	-	250	-
70 $^{\circ}$ C水浴15min左右，冷却							
样本	-	-	250	250	-	-	-
试剂一	250	-	250	-	250	-	-
蒸馏水	-	250	-	250	-	250	250
于40 $^{\circ}$ C恒温水浴中准确保温5min							
试剂二	125	125	125	125	125	125	125
蒸馏水	375	375	375	375	375	375	375

混匀后于1mL玻璃比色皿中测定570nm下的吸光度，从左到右分别记为A1、A2、A3、A4、A5、A6和A7，计算 $\Delta A_{\alpha} = A5 - (A1 - A2)$ ， $\Delta A_{总} = A5 - (A3 - A4)$ ， $\Delta A_{标准} = A6 - A7$ 。空白管、标准曲线只需做1-2次。

## 二、 $\beta$ -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  $\Delta A$  标准 ( $y$ ,  $\Delta A$  标准)，建立标准曲线。将 $\Delta A_{\alpha}$ 测定带入方程得到 $x_1$  (mg/mL)， $\Delta A_{总}$ 代入方程得到 $x_2$  (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组织每分钟消耗1mg淀粉定义为1个酶活力单位。

$\alpha$ -淀粉酶活性(U/g 质量) =  $x_1 \times V_{样} \div (W \times V_{样} \div V_{样总}) \div T = 0.2 \times x_1 \div W$

#### (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。

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

#### (3) 按液体体积计算：

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。

$\alpha$ -淀粉酶活性(U/mL) =  $x_1 \times V_{样} \div V_{样} \div T = 0.2 \times x_1$

$V_{样}$ ：加入反应体系中样本体积，0.25mL； $V_{样总}$ ：样本总体积，1mL； $C_{pr}$ ：样本蛋白质浓度，mg/mL； $W$ ：样本质量，g； $T$ ：反应时间，5min。

### 3. 总淀粉酶活性的计算

#### (1) 按照样本质量计算

单位定义：每g组织每分钟消耗1mg淀粉定义为1个酶活力单位。

总淀粉酶活性(U/g 质量) =  $x_2 \times V_{样} \div (W \times V_{样} \div V_{样总}) \div T = 0.2 \times x_2 \div W$

#### (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。

总淀粉酶活性(U/mg prot) =  $x_2 \times V_{样} \div (V_{样} \times C_{pr}) \div T = 0.2 \times x_2 \div C_{pr}$



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

(3) 按液体体积计算

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。

$$\text{总淀粉酶活性(U/mL)} = x_2 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样}} \div T = 0.2 \times x_2$$

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，5min。

4.  $\beta$ -淀粉酶活性的计算

(1) 按照样本质量计算

单位定义：每g组织每分钟消耗1mg淀粉定义为1个酶活力单位。

$$\beta\text{-淀粉酶活性(U/g 质量)} = \text{淀粉酶总活性} - \alpha\text{-淀粉酶活性} = 0.2 \times x_2 \div W - 0.2 \times x_1 \div W$$

(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。

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

(3) 按液体体积计算

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。

$$\beta\text{-淀粉酶活性(U/mL)} = \text{淀粉酶总活性} - \alpha\text{-淀粉酶活性} = 0.2 \times x_2 - 0.2 \times x_1$$

**注意事项：**

1. 吸光值大于1.5或者 $\Delta A$ 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

**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>