

β-淀粉酶活性检测试剂盒（碘-淀粉比色法）（微量法）

产品货号：BA1926

产品规格：100管/48样

产品简介：

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。

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。α-AL耐酸，β-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15mL×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15mL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/酶标仪、恒温水浴锅、台式离心机、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96孔板、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，常温离心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/酶标仪预热30min以上，调节双波长至570nm，分光光度计蒸馏水调零。
2. 将淀粉标准液用蒸馏水稀释为0.4、0.2、0.1、0.05、0.025、0.0125、0.00625mg/mL的标准溶液。

序号	稀释前浓度(mg/mL)	标准液体积(μL)	蒸馏水体积(μL)	稀释后浓度(mg/mL)
1	1	200	300	0.4
2	0.4	200	200	0.2



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	0.2	200	200	0.1
4	0.1	200	200	0.05
5	0.05	200	200	0.025
6	0.025	200	200	0.0125
7	0.0125	200	200	0.00625

备注：实验中每个标准管需100 μ L标准溶液。

3. 按操作表依次加入各试剂：

试剂名称 (μ L)	α -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	100	100	-	-	-	-	-
蒸馏水	-	-	-	-	100	-	100
标准溶液	-	-	-	-	-	100	-
70 $^{\circ}$ C水浴15min左右，冷却							
样本	-	-	100	100	-	-	-
试剂一	100	-	100	-	100	-	-
蒸馏水	-	100	-	100	-	100	100
于40 $^{\circ}$ C恒温水浴中准确保温5min							
试剂二	50	50	50	50	50	50	50

混匀后吸取200 μ L于微量玻璃比色皿或者96孔板中测定570nm下的吸光度，从左到右分别记为A1、A2、A3、A4、A5和A6，计算 $\Delta A_{\alpha} = A_5 - (A_1 - A_2)$ ， $\Delta A_{总} = A_5 - (A_3 - A_4)$ ， $\Delta A_{标准} = A_6 - A_7$ 。空白管、标准曲线只需做1-2次。

三、 β -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 ΔA_{α} 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. α -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。

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

(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。

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

(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。

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

V_样：加入反应体系中样本体积，0.1mL；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。

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

(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。

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

(3) 按液体体积计算



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

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。

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，0.1mL；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. β -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。

β -淀粉酶活性(U/g 质量)=淀粉酶总活性- α -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。

β -淀粉酶活性(U/mg prot)=淀粉酶总活性- α -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。

β -淀粉酶活性(U/mL)=淀粉酶总活性- α -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 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

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>