

## $\alpha$ -淀粉酶活性检测试剂盒（碘-淀粉比色法）（微量法）

产品货号：BA1928

产品规格：100T/48S

### 产品简介：

淀粉酶负责水解淀粉，包括 $\alpha$ -淀粉酶和 $\beta$ -淀粉酶。 $\alpha$ -淀粉酶(EC 3.2.1.1)可随机地作用于淀粉中的 $\alpha$ -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。

$\alpha$ -淀粉酶催化淀粉分子中的 $\alpha$ -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。

$\alpha$ -AL耐热，但是 $\beta$ -淀粉酶可在70℃钝化15min。因此粗酶液经过70℃钝化15min，就只有 $\alpha$ -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：

- 试剂一：临用前加入6.25mL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：

酶标仪/可见分光光度计、恒温水浴锅、台式离心机、可调式移液器、96孔板/微量玻璃比色皿、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，室温离心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/酶标仪预热30min以上，调节波长到570nm，分光光度计蒸馏水调零。
- 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 ( $\mu$ L)	稀释后浓度 (mg/mL)	空白管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

1	1	200	300	0.4
2	0.4	200	200	0.2
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

3. 实验中每个标准管需100 $\mu$ L标准溶液。  
 4. 按操作表依次加入各试剂：

试剂 ( $\mu$ L)	测定管	对照管	空白管	标准管	标准空白管
$\alpha$ -淀粉酶原液	100	100	-	-	-
蒸馏水	-	-	100	-	100
标准溶液	-	-	-	100	-
70 $^{\circ}$ C水浴15min左右，冷却					
试剂一	100	-	100	-	-
蒸馏水	-	100	-	100	100
70 $^{\circ}$ C水浴15min左右，冷却					
试剂二	50	50	50	50	50
混匀后吸取200 $\mu$ L于微量玻璃比色皿或者96孔板中读取测定管、对照管、空白管、标准管、标准空白管570nm下的吸光度，分别记为A测定、A对照、A空白、A标准和A标准空白，计算 $\Delta A_{测定}=A_{空白}-(A_{测定}-A_{对照})$ ， $\Delta A_{标准}=A_{标准}-A_{标准空白}$ 。标准曲线和标准空白管只需做1-2次。					

### 三、 $\alpha$ -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。根据标准曲线，将 $\Delta A_{测定}$  (y,  $\Delta A_{测定}$ ) 带入公式计算样本浓度 (x, mg/mL)。

#### 2. $\alpha$ -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。

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

##### (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。

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

##### (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。

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

V<sub>样</sub>：加入反应体系中样本体积，0.1mL；V<sub>样总</sub>：样本总体积，1mL；C<sub>pr</sub>：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1.5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