



## β-淀粉酶活性检测试剂盒

### β-AL Assay Kit

微量法

产品编号: AK422M

产品规格: 100T/48S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
AK422-A	35mL×1 瓶	室温保存。若有黄色晶体析出, 可90℃加热溶解后再用。
AK422-B	15mL×1 瓶	4℃保存。若有沉淀析出, 可70℃加热溶解后使用。
AK422-标准品	粉剂×1 支	临用前加入 1 mL 蒸馏水配制成 10 mg/mL 的标准溶液; 4℃保存

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

简介:

**意义:** 淀粉水解酶, 包括α-淀粉酶和β-淀粉酶。β-淀粉酶 (β-amylase, β-AL, EC 3.2.1.2) 可随机催化淀粉中的α-1,4-糖苷键, 生成葡萄糖、麦芽糖、麦芽三糖、糊精等还原糖。

**原理:** 还原糖还原 3,5-二硝基水杨酸生成棕红色物质。α-淀粉酶不耐酸, β-淀粉酶不耐热。根据上述特性, 钝化其中之一, 就可测出另一种淀粉酶的活力。

自备用品:

可见分光光度计/酶标仪、恒温水浴锅、离心机、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96 孔板、研钵和蒸馏水。

粗酶液提取:

组织: 称取 0.1~0.2g 样本 (建议称取约 0.1g 样本), 加 1 mL 蒸馏水匀浆; 将匀浆倒入离心管中, 在室温下放置提取 15min, 每隔 5min 振荡 1 次, 使其充分提取; 3000g, 25℃离心 10min, 吸取上清液并且加蒸馏水定容至 10 mL, 摇匀, 即为淀粉酶原液。

吸取上述淀粉酶原液 1mL, 加入 4mL 蒸馏水, 摇匀, 即为淀粉酶稀释液, 用于 (α+β) 淀粉酶总活力的测定。

测定步骤:

1. 分光光度计或酶标仪预热 30min 以上, 调节波长到 540 nm, 蒸馏水调零。
2. 标准液的稀释: 将 10mg/mL 葡萄糖标准液用蒸馏水稀释为 1、0.5、0.25、0.125、0.0625 mg/mL 的标准溶液。
3. AK422-A 和 AK422-B 40℃预热 10min。
4. 测定步骤 (在 EP 管中依次加入下列试剂):

试剂名称	α-淀粉酶活力测定		总淀粉酶活力测定		标准曲线测定	
	对照管 (μL)	测定管 (μL)	对照管 (μL)	测定管 (μL)	标准管 (μL)	空白管 (μL)
α-淀粉酶原液	75 (煮沸)	75				
标准溶液					75	
蒸馏水					75	150
70℃准确水浴 15min, 流水冷却至室温						
淀粉酶稀释液			75 (煮沸)	75		
AK422-B		75		75		
在 40℃恒温水浴中准确保温 5min						
AK422-A	150	150	150	150	150	150
AK422-B	75		75			

混匀，95℃水浴 5min，冷却，在 540nm 下测定吸光度，540nm 处读取吸光值，从左到右分别记为 A1、A2、A3、A4、A5 和 A6，计算  $\Delta A_{\alpha} = A2 - A1$ ， $\Delta A_{\text{总}} = A4 - A3$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A5 - A6$ 。

注：每个测定管需设一个对照管，标准曲线和空白管只需测 1-2 次。

#### 酶活性计算：

##### 1. 标准曲线的绘制：

以标准液的浓度 (mg/mL) 为 x 轴，对应的  $\Delta A_{\text{标准}}$  为 y 轴，绘制标准曲线，得到标准方程  $y = kx + b$ ，将  $\Delta A_{\alpha}$  代入方程得到  $x_1$  (mg/mL)， $\Delta A_{\text{总}}$  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 组织每分钟催化产生 1mg 还原糖定义为 1 个酶活力单位。

$$\alpha\text{-淀粉酶活性 (U/g 质量)} = x_1 \times V_{\text{样}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 2 \times x_1 \div W$$

###### (2) 按照蛋白质含量计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟催化产生 1mg 还原糖定义为 1 个酶活性单位。

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

##### 3. 总淀粉酶活性计算：

###### (1) 按照样本质量计算

单位定义：每 g 组织每分钟催化产生 1mg 还原糖定义为 1 个酶活力单位。

$$\text{总淀粉酶活性 (U/g 质量)} = 5 \times x_2 \times V_{\text{样}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 10 \times x_2 \div W$$

###### (2) 按照蛋白质含量计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟催化产生 1mg 还原糖定义为 1 个酶活力单位。

$$\text{总淀粉酶活性 (U/mg prot)} = 5 \times x_2 \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = x_2 \div C_{\text{pr}}$$

##### 4. $\beta$ -淀粉酶活性计算：

###### (1) 按照样本质量计算

$$\beta\text{-淀粉酶活性 (U/g 质量)} = \text{淀粉酶总活性} - \alpha\text{-淀粉酶活性} = (10 \times x_2 \div W) - (2 \times x_1 \div W) = (10 \times x_2 - 2 \times x_1) \div W$$

###### (2) 按照蛋白质含量计算

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

5: 总淀粉酶稀释倍数；V 样：加入反应体系中样本体积，0.075mL；V 样总：提取液总体积，10mL；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g；T：反应时间，5min。

※ 蛋白定量检测建议使用本公司：BCA Protein Assay Kit ([C05-02001](#))