

植物 α -淀粉酶 (α -AL) 活性检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
PMHA6-C24	α -淀粉酶 (α -AL) 活性检测试剂盒	24T	常量法
PMHA6-C48		48T	

一、测定意义：

α -淀粉酶(EC 3.2.1.1)可随机地作用于淀粉中的 α -1,4-糖苷键，生成葡萄糖、麦芽糖、麦芽三糖、糊精等还原糖，同时使淀粉的粘度降低，因此又称为液化酶。

二、测定原理：

淀粉水解酶催化淀粉水解生成还原糖，还原糖还原 3,5-二硝基水杨酸生成棕红色物质，在 540nm 有吸收峰；通过测定 540nm 吸光度增加速率，计算淀粉酶活性。 α -AL 耐热，但是 β -淀粉酶可在 70℃ 钝化 15min。因此粗酶液经过 70℃ 钝化 15min，就只有 α -AL 能够催化淀粉水解。

三、试剂组成：

试剂名称	试剂装量 (24T)	试剂装量 (48T)	保存条件
试剂一	液体 40 mL×1 瓶	液体 60 mL×1 瓶	常温保存
试剂二	液体 15 mL×1 瓶	液体 15 mL×2 瓶	2-8℃保存
试剂三	粉剂×1 支	粉剂×2 支	2-8℃保存
工作液的配制： 临用前取1支试剂三加入到1瓶试剂二中，加热煮沸，期间不断搅拌粉剂至完全溶解，用不完的试剂 2-8℃ 保存4周；			
标准品 (10mg)	粉剂×1 支	粉剂×2 支	2-8℃保存

四、操作步骤：

样本前处理

称取约 0.1g 样本，加 0.8mL 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，吸取上清液并加蒸馏水定容至 10 mL，摇匀，即为淀粉酶原液。

测定步骤

- 分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 540nm，蒸馏水调零。
- 标准液的稀释：将 10mg/mL 的标准液用蒸馏水稀释为 0.2、0.1、0.05、0.02、0.01、0.005 mg/mL 的标准溶液；
- 对照管样本处理：取 250 μ L 样本沸水浴 5min 作为对照管使用。
- 操作表（在离心管中加入以下试剂）：

试剂名称	对照管	测定管	标准管	空白管
淀粉酶原液 (μ L)	-	250	-	-
煮沸样本 (μ L)	250	-	-	
蒸馏水 (μ L)	-	-	-	250
标准液 (μ L)	-	-	250	-
置于 70℃ 水浴锅中准确反应15min，冷却至室温				
工作液 (μ L)	-	250	-	-
置于 40℃ 水浴锅中准确保温5min				
试剂一 (μ L)	500	500	500	500
工作液 (μ L)	250	-	250	250
混匀，沸水浴 10min，流水冷却，540nm 处读取吸光度，分别记为 $A_{\text{对照}}$ 、 $A_{\text{测定}}$ 、 $A_{\text{标准}}$ 和 $A_{\text{空白}}$ ，计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。每个测定管需设一个对照管。空白管只需测 1-2 次。				

五、 α -淀粉酶活性计算：

- 标准曲线的绘制：以标准液的浓度 (mg/mL) 为 y 轴，对应的 $\Delta A_{\text{标准}}$ 为 x 轴绘制标准曲线，得到标准方程 $y=kx+b$ ，将 $\Delta A_{\text{测定}}$ 带入方程中计算得到样本浓度 (y, mg/mL)。
- 按样本质量计算：

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

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

3、按蛋白浓度计算：

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

$$\alpha\text{-淀粉酶活性 } (U/mg \text{ prot}) = y \times V_{\#} \div (V_{\#} \times Cpr) \div T = 0.2 \times y \div Cpr$$

$V_{\#}$: 加入样本体积, 0.25mL; $V_{\text{样总}}$: 加入提取液体积, 10 mL; T:

反应时间, 5 min; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; W: 样本质量 g。

【厂家信息】

生产企业：南京陌凡生物科技有限公司

地址：南京市栖霞区红枫科技园 A6 栋 2 层

【售后微信】



【说明书核准及修改日期】

核准日期：2025 年 4 月 7 日

修改日期：2025 年 4 月 7 日