

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-M48	α -淀粉酶 (α -AL) 活性检测试剂盒	48T	微量法
PMHA6-M96		96T	

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 (48T)	试剂装量 (96T)	保存条件
试剂一	液体 25 mL×1 瓶	液体 50 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

- 1、酶标仪预热 30min 以上,调节波长至 540nm,蒸馏水调零。
- 2、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;
- 3、对照管样本处理:取 50 μ L 样本沸水浴 5min 作为对照管使用。
- 4、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)	-	100	-	-
煮沸样本 (μ L)	100	-	-	-
蒸馏水 (μ L)	-	-	-	100
标准液 (μ L)	-	-	100	-
置于 70℃ 水浴锅中准确反应 15min, 冷却至室温				
工作液 (μ L)	-	100	-	-
置于 40℃ 水浴锅中准确保温 5min				
试剂一 (μ L)	200	200	200	200
工作液 (μ L)	100	-	100	100
混匀,沸水浴 10min,流水冷却,取 200 μ L 于 96 孔板中,540nm 处酶标仪读取吸光度,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：

- 1、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)。
- 2、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。

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

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

酶活力单位。

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

$V_{\text{样}}$ ：加入样本体积，0.1mL； $V_{\text{样总}}$ ：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