

## 植物 $\beta$ -淀粉酶 ( $\beta$ -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
PMHA7-C24	$\beta$ -淀粉酶 ( $\beta$ -AL) 活性检测试剂盒	24T	常量法
PMHA7-C48		48T	

### 一、测定意义：

淀粉酶负责水解淀粉，主要包括 $\alpha$ -淀粉酶和 $\beta$ -淀粉酶。 $\beta$ -淀粉酶(EC 3.2.1.2) 从淀粉的非还原端切开 $\alpha$ -1,4 糖苷键，生成葡萄糖、麦芽糖、麦芽三糖、糊精等还原糖。

### 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。 $\alpha$ -淀粉酶不耐酸， $\beta$ -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。

### 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 70 mL×1 瓶	液体 70mL×2 瓶	常温保存
试剂二	液体 30 mL×1 瓶	液体 30 mL×2 瓶	2-8℃保存
试剂三	粉剂×1 支	粉剂×2 支	2-8℃保存
<b>工作液的配制：</b> 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×1 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。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  $(\alpha+\beta)$  淀粉酶总活力的测定。

#### 测定步骤

- 1、分光光度计预热 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、0.05 mg/mL 的标准溶液；
- 3、取 2 支 EP 管分别加入 250 $\mu$ L 淀粉酶原液和淀粉酶稀释液，沸水浴 5min，分别作为 $\alpha$ -淀粉酶对照管和总淀粉酶对照管使用。

#### 4、操作表（在离心管中加入以下试剂）：

试剂名称	$\alpha$ -淀粉酶		总淀粉酶		标准曲线	
	对照管	测定管	对照管	测定管	空白管	标准管
淀粉酶原液 ( $\mu$ L)	250 (煮沸)	250	-	-	-	-
蒸馏水 ( $\mu$ L)	-	-	-	-	250	-
标准溶液 ( $\mu$ L)	-	-	-	-	-	250
置于 70℃水浴锅中准确反应 15min，冷却至室温						
淀粉酶稀释液 ( $\mu$ L)	-	-	250 (煮沸)	250	-	-
试剂二 ( $\mu$ L)	-	250	-	250	-	-
置于 40℃水浴锅中准确保温 5min						
试剂一 ( $\mu$ L)	500	500	500	500	500	500
试剂二 ( $\mu$ L)	250	-	250	-	250	250
混匀，沸水浴 10min，流水冷却，在 540nm 下测定吸光度，从左到右分别记为 A1、A2、A3、A4、A5 和 A6，计算 $\Delta A_{\alpha}=A2-A1$ ， $\Delta A_{\text{总}}=A4-A3$ ， $\Delta A_{\text{标准}}=A6-A5$ 。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。						

#### 五、 $\beta$ -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  $\Delta A_{\alpha}$  带入方程中计算得到样本浓度 ( $y_1$ , mg/mL)，将  $\Delta A_{\text{总}}$  带入方程中计算得到样本浓度 ( $y_2$ , mg/mL)。

#### 2、 $\alpha$ -淀粉酶活性计算：

(1) 按样本质量计算:

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

$$\alpha\text{-AL(U/g)} = y1 \times V_{\text{样}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 2 \times y1 \div W$$

(2) 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。

$$\alpha\text{-AL (U/mg prot)} = y1 \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \times Cpr) \div T = 0.2 \times y1 \div Cpr$$

3、总淀粉酶活性计算:

(1) 按样本质量计算:

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

$$\text{总 AL(U/g)} = y2 \times V_{\text{样}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T \times 5 = 10 \times y \div W$$

(2) 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。

$$\text{总 } \alpha\text{-AL (U/mg prot)} = y2 \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \times Cpr) \div T \times 5 = y \div Cpr$$

4、总淀粉酶活性计算:

$$\beta\text{-AL} = \text{总 AL} - \alpha\text{-AL}$$

$V_{\text{样}}$ : 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