

植物β-淀粉酶（β-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 | β-淀粉酶（β-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α-淀粉酶和β-淀粉酶。β-淀粉酶(EC 3.2.1.2) 从淀粉的非还原端切开α-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。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。

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 |
| 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×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（α+β）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 250μL 淀粉酶原液和淀粉酶稀释液，沸水浴 5min，分别作为α-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 | α-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（μL） | 250（煮沸） | 250 | - | - | - | - |
| 蒸馏水（μL） | - | - | - | - | 250 | - |
| 标准溶液（μL） | - | - | - | - | - | 250 |
| 置于 70℃水浴锅中准确反应 15min，冷却至室温 | | | | | | |
| 淀粉酶稀释液（μL） | - | - | 250（煮沸） | 250 | - | - |
| 试剂二（μL） | - | 250 | - | 250 | - | - |
| 置于 40℃水浴锅中准确保温 5min | | | | | | |
| 试剂一（μL） | 500 | 500 | 500 | 500 | 500 | 500 |
| 试剂二（μL） | 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、β-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 ΔA_{α} 带入方程中计算得到样本浓度（y1，mg/mL），将 $\Delta A_{\text{总}}$ 带入方程中计算得到样本浓度（y2，mg/mL）。

2、α-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。

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

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 个酶活性单位。

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

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