



## 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	30mL×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、微量石英比色皿/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。

**血清（浆）等液体样本：**（1）直接检测α-淀粉酶。（2）吸取淀粉酶原液 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 0.5、0.25、0.125、0.0625、0.03125、0.015625、0.0078 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		75		
标准溶液					75	
蒸馏水						75
70℃水浴 15min 左右，流水冷却。						
淀粉酶稀释液			75	75		
蒸馏水	75		75			
AK422-B		75		75	75	75
在 40℃恒温水浴中准确保温 5min						

AK422-A	150	150	150	150	150	150
---------	-----	-----	-----	-----	-----	-----

混匀，95 度水浴 5min，冷却，取 200 μL 至微量石英比色皿或 96 孔板中，540nm 处读取吸光值，从左到右分别记为 A1、A2、A3、A4、A5 和 A6，计算  $\Delta A_{\alpha} = A2 - A1$ ， $\Delta A_{总} = A4 - A3$ ， $\Delta A_{标准} = A5 - A6$ 。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  $\Delta A$  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)， $\Delta A_{总}$  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。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

单位定义：每 g 组织在反应体系中每分钟催化产生 1mg 还原糖定义为 1 个酶活力单位。

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

##### (2) 按照蛋白质含量计算

单位定义：每 mg 组织蛋白在反应体系中每分钟催化产生 1mg 还原糖定义为 1 个酶活力单位。

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

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](#))