



β-淀粉酶活性检测试剂盒

β-AL Assay Kit

可见分光光度法

产品编号：AK422V

产品规格：50T/24S

产品组成及保存条件：

编号	规格	储存条件
AK422-A	50mL×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	40mL×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、恒温水浴锅、离心机、可调式移液器、玻璃比色皿、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		250		250		
标准溶液					250	
蒸馏水						250
70℃水浴 15min 左右，流水冷却。						
淀粉酶稀释液			250	250		
蒸馏水	250		250			
AK422-B		250		250	250	250
在 40℃恒温水浴中准确保温 5min						

AK422-A	500	500	500	500	500	500
混匀，95℃水浴 5min，冷却，在 540nm 下测定吸光度，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 ΔA 标准为 y 轴，绘制标准曲线，得到标准方程 $y = kx + b$ ，将 ΔA_{α} 代入方程得到 x_1 (mg/mL)， $\Delta A_{总}$ 代入方程得到 x_2 (mg/mL)。

2. α -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。

$$\alpha\text{-淀粉酶活性(U/mg prot)} = x_1 \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T = 0.2 \times x_1 \div \text{Cpr}$$

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) = $5 \times x_2 \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T = x_2 \div \text{Cpr}$

4. β -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。

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

5: 总淀粉酶稀释倍数; V 样: 加入反应体系中样本体积, 0.25mL; 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](#))