



β-淀粉酶活性检测试剂盒(碘-淀粉比色法)

中文名称：**β-淀粉酶活性检测试剂盒(碘-淀粉比色法)**

英文名称：β-Amylase(β-AL)Activity Assay Kit(Iodine-starch colorimetry)

产品包装：盒装

产品规格：100T/48S

储存条件：2-8℃

检测方法：微量法

有效期：6个月

产品组成：

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	粉剂×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	液体 15mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂三	液体 30mL×1 瓶	2-8℃保存
标准品	粉剂×1 瓶	2-8℃保存

溶液的配制：

1、试剂一：临用前加入 15mL 试剂三，置于常温水中并加热至煮沸，期间不断搅拌粉剂至溶解，用不完的试剂 2-8℃保存 8 周；

2、标准品：10mg 淀粉标准品。临用前加 10mL 试剂三，置沸水浴中振荡溶解，配成 1mg/mL 淀粉标准液。2-8℃保存四周。

产品说明：

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(EC3.2.1.2)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。

碘可以与未被淀粉酶水解的淀粉结合，生成在 570nm 下有特征吸收峰的复合物，其深浅可计算出淀粉酶的活力单位。 α -AL 耐热不耐酸， β -AL 耐酸不耐热。根据上述特性，钝化其中之一，就可测得另一种活性。



注意：实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验，如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、恒温水浴锅、台式离心机、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96 孔板、研钵/匀浆器、蒸馏水。

操作步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量）

- 1、组织：称取约 0.1g 样本，加 1mL 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，吸取上清液即为淀粉酶原液。
- 2、液体：直接检测。（若有浑浊则离心后测定）

二、测定步骤

- 1、分光光度计/酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 570nm，分光光度计蒸馏水调零。
- 2、将淀粉标准液用蒸馏水稀释为 0.4、0.2、0.1、0.05、0.025、0.0125、0.00625mg/mL 的标准溶液。

序号	稀释前浓度(mg/mL)	标准液体积(μ L)	蒸馏水体积(μ L)	稀释后浓度(mg/mL)
1	1	200	300	0.4



2	0.4	200	200	0.2
3	0.2	200	200	0.1
4	0.1	200	200	0.05
5	0.05	200	200	0.025
6	0.025	200	200	0.0125
7	0.0125	200	200	0.00625

实验中每个标准管需 100 μ L 标准溶液。

3、按操作表依次加入各试剂:

试剂名称(μ L)	α -淀粉酶活力测定		总淀粉酶活力测定		空白管 5	标准曲线的测定	
	测定管 1	对照管 2	测定管 3	测定管 4		标准管 6	标准空白管 7
α -淀粉酶原液							
样本	100	100	-	-	-	-	-
蒸馏水	-	-	-	-	100		100
标准溶液	-	-	-	-	-	100	-
70 $^{\circ}$ C水浴 15min 左右, 冷却							
样本	-	-	100	100	-	-	-
试剂一	100	-	100	-	100	-	-
蒸馏水	-	100	-	100	-	100	100
于 40 $^{\circ}$ C恒温水浴中准确保温 5min							
试剂二	50	50	50	50	50	50	50

混匀后于 1mL 玻璃比色皿中测定 570nm 下的吸光度, 从左到右分别记为 A1、A2、A3、A4、

A5、A6 和 A7, 计算 $\Delta A_{\alpha} = A5 - (A1 - A2)$, $\Delta A_{总} = A5 - (A3 - A4)$, $\Delta A_{标准} = A6 - A7$ 。空白管、

标准曲线只需做 1-2 次。

三、 β -淀粉酶活性计算

1、标准曲线的绘制

根据标准管的浓度(x, mg/mL)和吸光度 $\Delta A_{标准}$ (y, $\Delta A_{标准}$), 建立标准曲线。将 ΔA_{α} 测定带

入方程得到 x1(mg/mL), $\Delta A_{总}$ 代入方程得到 x2(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 组织每分钟消耗 1mg 淀粉定义为 1 个酶活力单位。

$$\alpha\text{-淀粉酶活性(U/g 质量)}=x1 \times V \text{ 样} \div (W \times V \text{ 样} \div V \text{ 样总}) \div T=0.2 \times x1 \div W$$

(2)按照蛋白质浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟消耗 1mg 淀粉定义为 1 个酶活性单位。

$$\alpha\text{-淀粉酶活性(U/mgprot)}=x1 \times V \text{ 样} \div (V \text{ 样} \times Cpr) \div T=0.2 \times x1 \div Cpr$$

(3)按液体体积计算：

单位定义：每 mL 液体每分钟消耗 1mg 淀粉定义为 1 个酶活性单位。

$$\alpha\text{-淀粉酶活性(U/mL)}=x1 \times V \text{ 样} \div V \text{ 样} \div T=0.2 \times x1$$

V 样：加入反应体系中样本体积，0.1mL；V 样总：样本总体积，1mL；Cpr：样本蛋白质浓

度，mg/mL；W：样本质量，g；T：反应时间，5min。

3、总淀粉酶活性的计算

(1)按照样本质量计算

单位定义：每 g 组织每分钟消耗 1mg 淀粉定义为 1 个酶活力单位。

$$\text{总淀粉酶活性(U/g 质量)}=x2 \times V \text{ 样} \div (W \times V \text{ 样} \div V \text{ 样总}) \div T=0.2 \times x2 \div W$$

(2)按照蛋白质浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟消耗 1mg 淀粉定义为 1 个酶活性单位。

$$\text{总淀粉酶活性(U/mgprot)}=x2 \times V \text{ 样} \div (V \text{ 样} \times Cpr) \div T=0.2 \times x2 \div Cpr$$

(3)按液体体积计算

单位定义：每 mL 液体每分钟消耗 1mg 淀粉定义为 1 个酶活性单位。

$$\text{总淀粉酶活性(U/mL)}=x2 \times V \text{ 样} \div V \text{ 样} \div T=0.2 \times x2$$



V 样：加入反应体系中样本体积，0.1mL；V 样总：样本总体积，1mL；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g；T：反应时间，5min。

4、β-淀粉酶活性的计算

(1)按照样本质量计算

单位定义：每 g 组织每分钟消耗 1mg 淀粉定义为 1 个酶活力单位。

$$\beta\text{-淀粉酶活性(U/g 质量)}=\text{淀粉酶总活性}-\alpha\text{-淀粉酶活性}=0.2\times x2\div W-0.2\times x1\div W$$

(2)按照蛋白质浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟消耗 1mg 淀粉定义为 1 个酶活性单位。

$$\beta\text{-淀粉酶活性(U/mgprot)}=\text{淀粉酶总活性}-\alpha\text{-淀粉酶活性}=0.2\times x2\div \text{Cpr}-0.2\times x1\div \text{Cpr}$$

(3)按液体体积计算：

单位定义：每 mL 液体每分钟消耗 1mg 淀粉定义为 1 个酶活性单位。

$$\beta\text{-淀粉酶活性(U/mL)}=\text{淀粉酶总活性}-\alpha\text{-淀粉酶活性}=0.2\times x2-0.2\times x1$$

注意事项：

吸光值大于 1.5 或者 ΔA 大于 0.8 时，可以对样本进行适当稀释后测定。

实验实例：

1.取约 0.1g 藜叶片进行样本处理，取上清液后按照测定步骤操作，用 96 孔板测得计算 $\Delta A\alpha$

$$=A5-(A1-A2)=1.065-$$

$(0.849-0.220)=0.436$ ， ΔA 总 $=A5-(A3-A4)=1.065-(0.677-0.197)=0.585$ ，带入标准曲线

$y=2.628x-0.0051$ ，计算 $x1=0.1678$ ， $x2=0.2245$ ，按样本质量计算酶活得：

$$\beta\text{-淀粉酶活性(U/g 质量)}=0.2\times x2\div W-0.2\times x1\div W=0.2\times 0.2245\div 0.1-0.2\times 0.1678\div$$

$$0.1=0.1134\text{U/g 质量。}$$

