



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°C

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°C保存
试剂二	液体 15mL×1瓶	2-8°C保存
试剂三	液体 30mL×1瓶	2-8°C保存
标准品	粉剂×1瓶	2-8°C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°C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°C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°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°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 $\Delta A_{\alpha} = A5 - (A1 - A2)$, $\Delta A_{\text{总}} = A5 - (A3 - A4)$, $\Delta A_{\text{标准}} = A6 - A7$ 。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 $\Delta A_{\text{标准}}$ (y, $\Delta A_{\text{标准}}$), 建立标准曲线。将 ΔA_{α} 测定带



入方程得到 $x_1(\text{mg/mL})$, ΔA 总代入方程得到 $x_2(\text{mg/mL})$ 。

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。

$$\alpha\text{-淀粉酶活性(U/g 质量)}=x_1 \times V_{\text{样}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T=0.2 \times x_1 \div W$$

(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。

$$\alpha\text{-淀粉酶活性(U/mgprot)}=x_1 \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T=0.2 \times x_1 \div C_{\text{pr}}$$

(3)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。

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

$V_{\text{样}}$: 加入反应体系中样本体积, 0.1mL; $V_{\text{样总}}$: 样本总体积, 1mL; C_{pr} : 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。

$$\text{总淀粉酶活性(U/g 质量)}=x_2 \times V_{\text{样}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T=0.2 \times x_2 \div W$$

(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。

$$\text{总淀粉酶活性(U/mgprot)}=x_2 \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T=0.2 \times x_2 \div C_{\text{pr}}$$

(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。



总淀粉酶活性(U/mL)= $x_2 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \div T = 0.2 \times x_2$

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。

β -淀粉酶活性(U/g 质量)=淀粉酶总活性- α -淀粉酶活性= $0.2 \times x_2 \div W - 0.2 \times x_1 \div W$

(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。

β -淀粉酶活性(U/mgprot)=淀粉酶总活性- α -淀粉酶活性= $0.2 \times x_2 \div Cpr - 0.2 \times x_1 \div Cpr$

(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。

β -淀粉酶活性(U/mL)=淀粉酶总活性- α -淀粉酶活性= $0.2 \times x_2 - 0.2 \times x_1$

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 ΔA_{α}

= $A_5 - (A_1 - A_2) = 1.065 -$

$(0.849 - 0.220) = 0.436$, $\Delta A_{\text{总}} = A_5 - (A_3 - A_4) = 1.065 - (0.677 - 0.197) = 0.585$, 带入标准曲线

$y = 2.628x - 0.0051$, 计算 $x_1 = 0.1678$, $x_2 = 0.2245$, 按样本质量计算酶活得:

β -淀粉酶活性(U/g 质量)= $0.2 \times x_2 \div W - 0.2 \times x_1 \div W = 0.2 \times 0.2245 \div 0.1 - 0.2 \times 0.1678 \div$

$0.1 = 0.1134 \text{U/g 质量}$ 。

