北京沃凯生物科技有限公司
全国免费电话:400-819-385
www.bjoka-vip.com
Tel:010-62971590. Fax:62340519
M-ail:postmaster@oka-vip.com

β-淀粉酶（β-amylase，β-AL）试剂盒说明书

分光光度法 50 管/24 样

正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

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)可随机地作用于淀粉中的 α-1,4-糖苷键，生成葡萄糖、麦芽糖、麦芽三糖、糊精等还原糖。

测定原理：

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。

需自备的仪器和用品：

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。

试剂的组成和配制：

试剂一：50mL×1 瓶，常温保存，若有黄色晶体析出，需 90℃加热溶解后再用；

试剂二：40mL×1 瓶，4℃保存，若有沉淀析出，需 70℃加热后再用。

粗酶液提取：

组织：称取 0.1~0.2g 样本（建议称取约 0.1g 样本），加入 1mL 蒸馏水，研磨匀浆；将匀浆倒入离心管中，提取液在室温下放置提取 15min，每 5min 振荡 1 次，使其充分提取；3000g，25℃离心 10min，取上清液加蒸馏水定容至 10 mL，摇匀，即淀粉酶原液。

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、 试剂一和试剂二 40℃预热 10min。

3、测定操作表：

试剂名称（μL）	α-淀粉酶活力测定		总淀粉酶活力测定	
	对照管	测定管	对照管	测定管
淀粉酶原液	250	250		
70℃水浴 15min 左右，冷却				
淀粉酶稀释液			250	250
蒸馏水	250		250	
试剂二		250		250
在 40℃恒温水浴中准确保温 5min				
试剂一	500	500	500	500

混匀，95℃水浴 5min，冷却，在 540nm 下测定吸光度，从左到右分别记为 A1、A2、A3 和 A4。

酶活性计算：

1、标准条件下测定回归曲线为 y=3.7215x -0.1778； x 为标准品浓度（mg/mL），y 为吸光值。

2、α-淀粉酶活性

（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。

α-淀粉酶活性(mg/min/g 鲜重)=[(A2-A1＋0.1778)÷3.7215×V 反总]÷(W×V 样÷V 样总)÷T

=1.075×(A2-A1＋0.1778)÷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。

α-淀粉酶活性(mg/min/mg prot)= [(A2-A1＋0.1778)÷3.7215×V 反总]÷（V 样×Cpr）÷T

=0.1075×(A2-A1＋0.1778) ÷Cpr

（3）血清（浆）等液体样本中 α-淀粉酶活性计算

单位定义：每 mL 血清（浆）每分钟催化产生 1mg 还原糖定义为 1 个酶活性单位。

α-淀粉酶活性(mg/min/mL)= [(A2-A1＋0.1778)÷3.7215×V 反总]÷V 样÷T=0.1075×(A2-A1＋0.1778)

3、总淀粉酶活性计算

（1）按照样品质量计算

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。

总淀粉酶活性(mg/min//g 鲜重)=5×[(A4-A3＋0.1778)÷3.7215×V 反总]÷(W×V 样÷V 样总)÷T=5.375×(A4-A3＋0.1778)÷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(mg/min/mg prot)=5×[(A4-A3＋0.1778)÷3.7215×V 反总]÷（V 样×Cpr）÷T

=0.5375×(A4-A3＋0.1778) ÷Cpr

（3）血清（浆）等液体样本中总淀粉酶活性计算

单位定义：每 mL 血清（浆）每分钟催化产生 1mg 还原糖定义为 1 个酶活性单位。

总淀粉酶活性(mg/min/mL) =5×[(A4-A3＋0.1778)÷3.7215×V 反总]÷V 样÷T

=0.5375×(A4-A3＋0.1778)

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。

β-淀粉酶活性(mg/min/g 鲜重)= 淀粉酶总活性-α-淀粉酶活性=[5.375×(A4-A3＋0.1778)-1.075×(A2-A1＋0.1778)]÷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。

β-淀粉酶活性（mg/min/mg prot）=淀粉酶总活性-α-淀粉酶活性=[0.5375×(A4-A3＋0.1778)-0.1075×(A2-A1＋0.1778)]÷Cpr

（3）血清（浆）等液体样本中 β-淀粉酶活性计算

单位定义：每 mL 血清（浆）每分钟催化产生 1mg 还原糖定义为 1 个酶活性单位。

β-淀粉酶活性（mg/min/mL）= 淀粉酶总活性-α-淀粉酶活性=0.5375×(A4-A3＋0.1778)-0.1075×(A2-A1＋0.1778)

5：总淀粉酶稀释倍数；V 反总：反应体系总体积，0.5mL；V 样：加入反应体系中样本体积，0.25 mL；V 样总：提取液总体积，10 mL； Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g；T：反应时间，5min。