



α -淀粉酶试剂盒（淀粉-碘比色法）

可见分光光度法

货号: R43981-48S

产品简介:

淀粉酶催化淀粉水解生成还原糖，是生物体利用淀粉进行碳水化合物代谢的初级反应。在底物浓度已知且过量的情况下，加入碘液与未水解的淀粉结合生成蓝色复合物，根据蓝色深浅可计算出水解的淀粉量，从而计算出 α -淀粉酶的酶活力大小。

试剂盒组成和配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体60mL×1瓶	4℃保存	
试剂一	试剂一A:粉体mg×2支 试剂一B:空瓶×2个	室温保存	使用前把一支A全部倒入一个B空瓶中，再用0.75mL试剂四涮洗试剂A的EP管后全部转至B瓶中，再向B瓶中加入3mL试剂四(B瓶中最终共3.75mL试剂四),混匀后于90-95度水浴溶解至澄清状态，最好现配现用(若出现沉淀不可再使用)。
试剂二	液体0.6mL×1支	4℃保存	
试剂三	液体6mL×1瓶	4℃保存	
试剂四	液体10mL×1瓶	4℃保存	

所需仪器和用品:

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿(光径1cm)、恒温水浴锅、台式离心机、可调式移液器、研钵和蒸馏水。

α -淀粉酶(α -AL) 活性检测:

建议正式实验前选取2个样本做预测定，了解本批样品和实验流程，避免样本和试剂浪费!

1、样本制备:



①组织样本: 称取约0.1g 组织(水分充足的样本可取0.5g), 加入1mL 经预冷提取液, 混匀后研磨匀浆, 4℃放置10min; 12000rpm, 4℃ 离心10min; 留上清, 弃沉淀。上清液置冰上待测。

②细菌/培养细胞: 先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清; 取约500万细菌或细胞加入1mL 提取液超声波破碎细菌或细胞(冰浴, 功率20%或200W, 超声3s, 间隔 10s, 重复30次);在室温下放置提取20min, 每隔5min 振荡1次, 使其充分提取; 12000rpm, 4℃离心10min, 上清液置冰上待测。

【注】:若增加样本量, 可按照细菌或细胞数量(10^4 个):提取液体积(mL) 为 500:1的比例进行提取。

③液体样本: 直接检测。若浑浊, 离心后取上清检测。

2、上机检测:

①可见分光光度计预热30min以上, 调节波长到660 nm, 蒸馏水调零, 试剂一于37℃ 预热10min。

②在EP管中依次加入:

试剂(μ L)	测定管	空白管(仅做一次)
样本	20	
蒸馏水		20
试剂一	100	100
混匀, 37℃ 孵育5min		
试剂二	10	10
试剂三	100	100
蒸馏水	600	600
务必混匀, 避光静置10min后, 取出全部澄清液体至1mL玻璃比色皿(光径1cm)中, 于660nm处读值, $\Delta A = A_{\text{空白}} - A_{\text{测定}}$ 。		

结果计算:

1、按照样本质量计算:

定义: 每克组织在37℃与底物作用30分钟, 水解10mg 淀粉定义为1个酶活力单位。



α -淀粉酶(10mg/30min/g 鲜重)

$$=[(\Delta A \div A_{\text{空白}}) \times C_{\text{底物液}} \times V_{\text{底物液}}] \div (W \times V_1 \div V) \div 10 \times (30 \div T) \times D$$

$$=3.6 \times (\Delta A \div A_{\text{空白}}) \div W \times D$$

2、按照蛋白质含量计算:

定义: 每毫克组织蛋白在37℃与底物作用30分钟, 水解10mg 淀粉定义为1个酶活力单位。

α -淀粉酶(10mg/30min/mg prot)

$$=[(\Delta A \div A_{\text{空白}}) \times C_{\text{底物液}} \times V_{\text{底物液}}] \div (V_1 \div V \times C_{\text{pr}}) \div 10 \times (30 \div T) \times D$$

$$=3.6 \times (\Delta A \div A_{\text{空白}}) \div C_{\text{pr}} \times D$$

3、按细菌/细胞密度计算:

定义: 每1万个细菌或细胞在37℃与底物作用30分钟, 水解10mg 淀粉定义为1个酶活力单位。

α -淀粉酶(10mg/30min/ 10^4 cell)

$$=[(\Delta A \div A_{\text{空白}}) \times C_{\text{底物液}} \times V_{\text{底物液}}] \div (V_1 \div V \times 500) \div 10 \times (30 \div T) \times D$$

$$=3.6 \times (\Delta A \div A_{\text{空白}}) \div 500 \times D$$

4、液体样本中酶活性计算:

定义: 每100mL 液体在37℃与底物作用30分钟, 水解10mg 淀粉定义为1个酶活单位。

α -淀粉酶(10mg/30min/mL)

$$=[(\Delta A \div A_{\text{空白}}) \times C_{\text{底物液}} \times V_{\text{底物液}}] \times (100 \div V_1) \div 10 \times (30 \div T) \times D$$

$$=360 \times (\Delta A \div A_{\text{空白}}) \times D$$

V---提取液总体积, 1mL;

V1--- 加入体系中样本体积, 20 μ L=0.02 mL;

W--- 样本质量, g;

T--- 反应时间, 5min;



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 400-666-5481 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: 3008007435@qq.com

C 底物液—底物液浓度, 1.2 mg/mL;

V 底物液—底物液加入量即试剂一, 0.1mL;

500---细菌或细胞总数, 万;

501-D--- 稀释倍数, 未稀释即为1;

Cpr---样本蛋白质浓度, mg/mL; 建议使用本公司的BCA 蛋白含量测定试剂盒。



源叶