

β-Amylase Activity Assay Kit

β-淀粉酶活性检测试剂盒

产品编号	产品名称	规格
BL899A	β-淀粉酶活性检测试剂盒	24T

产品简介:

淀粉酶包括α-淀粉酶(α-AL)和β-淀粉酶(β-AL)。β-淀粉酶是普遍分布在动物、植物和微生物中的一种巯基酶，作为重要的淀粉水解酶，能够作用于淀粉的非还原端α-1,4-糖苷键，生成葡萄糖、麦芽糖和麦芽低聚糖等，遇到α-1,6-糖苷键即停止作用，生成β-极限糊精，在食品、酿造和制糖等领域具有广泛应用。

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。生成的还原糖能使 3,5-二硝基水杨酸生成棕红色得 3-氨基-5-硝基水杨酸，在 540 nm 有吸收峰；通过测定 540 nm 吸光度增加速率，计算淀粉酶活性。本试剂盒采用 70°C 加热钝化β-淀粉酶测出α-淀粉酶的活力，再与非钝化条件下测定的总活力(α+β)相比较，求出β-淀粉酶的活性。

产品组成:

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	液体 15mL×1 瓶	4°C 保存	
试剂二	粉末×1 瓶	4°C 保存	临用前用试剂一于 80°C 水浴溶解，并定容至 10mL。
试剂三	液体 50mL×1 瓶	4°C 保存	
标准品	粉末×1 支	4°C 保存	若重新做标曲，则用到该试剂。

使用方法:

建议正式实验前，选取 2 个样本做预测定，了解实验样品情况，熟悉流程，避免样本和试剂浪费！

一、样本准备:

1. 组织样本:

- 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 20min，每隔 5min 振荡 1 次，使其充分提取；
- 7000-8000g，25°C 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(酶液 I)；
- 用于α-淀粉酶测定吸取上述淀粉酶原液 1mL，加入 4mL 蒸馏水，摇匀，即为总淀粉酶稀释液(酶液 II)，用于(α+β)淀粉酶总活力的测定。

【注】：若增加样本量，可按照组织质量(g)：蒸馏水体积(mL)为 1：5~10 的比例进行提取。

2. 液体样本:

若液体澄清，直接检测；若浑浊，离心后取上清检测。

二、样品测定:

- 可见分光光度计预热 30min，设定波长到 540nm，蒸馏水调零。
- 试剂一和试剂二 40°C 预热 10min。
- 在离心管中依次加入：

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.
注意：在体外研究使用，不用于诊断或治疗用途，本产品不是医疗装置。

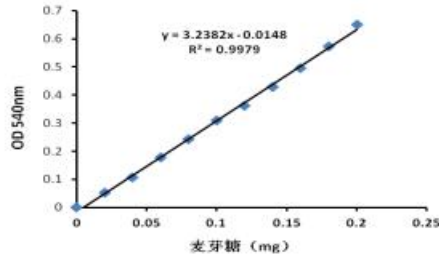


试剂名称 (μL)	α -淀粉酶活力测定		总淀粉酶活力测定	
	测定管	对照管	测定管	对照管
酶液 I	200	200	-	-
70°C水浴 15min 钝化, 冷却				
酶液 II	-	-	200	200
蒸馏水	-	200	-	200
试剂二	200	-	200	-
40°C恒温水浴中准确保温 5min				
试剂三	450	450	450	450
混匀, 95 度水浴 5min, 流水冷却, 全部转移至 1mL 的玻璃比色皿中, 540nm 处读取吸光值, 从左到右分别记为 A1、A2、A3 和 A4。每个测定管需设一个对照管。				

【注】：若 ΔA 较小, 可适当增加酶液检测。则改变后的 V1 需代入计算公式重新计算。

三、含量计算

1. 标准曲线方程: $y = 3.2382x - 0.0148$; x 为标准品浓度 (mg), y 为吸光值 ΔA 。



2. 总淀粉酶活性计算:

(1) 按照样本质量计算

单位定义: 每克组织每分钟催化产生 1mg 麦芽糖定义为 1 个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{总淀粉酶活性(mg/min/g 鲜重)} &= 5 \times [(\Delta A_{\text{总}} + 0.0148) \div 3.2382] \div (W \times V1 \div V) \div T \\ &= 15.44 \times (\Delta A_{\text{总}} + 0.0148) \div W \end{aligned}$$

(2) 按照蛋白质含量计算

单位定义: 每毫克组织蛋白每分钟催化产生 1mg 麦芽糖定义为 1 个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{总淀粉酶活性(mg/min/mg prot)} &= 5 \times [(\Delta A_{\text{总}} + 0.0148) \div 3.2382] \div (V1 \div V \times Cpr) \div T \\ &= 15.44 \times (\Delta A_{\text{总}} + 0.0148) \div Cpr \end{aligned}$$

(3) 液体样本中总淀粉酶活性计算

单位定义: 每毫升液体每分钟催化产生 1mg 麦芽糖定义为 1 个酶活性单位。

$$\begin{aligned} \text{总淀粉酶活性(mg/min/mL)} &= 5 \times [(\Delta A_{\text{总}} + 0.0148) \div 3.2382] \div V1 \div T \\ &= 1.544 \times (\Delta A_{\text{总}} + 0.0148) \end{aligned}$$

3. α -淀粉酶活性计算:

(1) 按照样本质量计算

单位定义: 每克组织每分钟催化产生 1mg 麦芽糖定义为 1 个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \alpha\text{-淀粉酶活性(mg/min/g 鲜重)} &= [(\Delta A_{\alpha\text{-淀粉酶}} + 0.0148) \div 3.2382] \div (W \times V1 \div V) \div T \\ &= 3.09 \times (\Delta A_{\alpha\text{-淀粉酶}} + 0.0148) \div W \end{aligned}$$

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.
注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。



(2) 按照蛋白质含量计算

单位定义：每毫克组织蛋白每分钟催化产生 1mg 麦芽糖定义为 1 个酶活性单位。

$$\alpha\text{-淀粉酶活性 (mg/min/mg prot)} = [(\Delta A_{\alpha\text{-淀粉酶}} + 0.0148) \div 3.2382] \div (V1 \div V \times Cpr) \div T$$

$$= 3.09 \times (\Delta A_{\alpha\text{-淀粉酶}} + 0.0148) \div Cpr$$

(3) 液体样本中 α -淀粉酶活性计算

单位定义：每毫升每分钟催化产生 1mg 麦芽糖定义为 1 个酶活性单位。

$$\alpha\text{-淀粉酶活性 (mg/min/mL)} = [(\Delta A_{\alpha\text{-淀粉酶}} + 0.0148) \div 3.2382] \div V1 \div T$$

$$= 0.309 \times (\Delta A_{\alpha\text{-淀粉酶}} + 0.0148)$$

4. β -淀粉酶活性计算：

(1) 按照样本质量计算

单位定义：每克组织在反应体系中每分钟催化产生 1mg 麦芽糖定义为 1 个酶活力单位。

$$\beta\text{-淀粉酶活性(mg/min/g 鲜重)} = \text{淀粉酶总活性} - \alpha\text{-淀粉酶活性}$$

$$= [15.44 \times (\Delta A_{\text{总}} + 0.0148) - 3.09 \times (\Delta A_{\alpha\text{-淀粉酶}} + 0.0148)] \div W$$

(2) 按照蛋白质含量计算

单位定义：每毫克组织蛋白每分钟催化产生 1mg 麦芽糖定义为 1 个酶活力单位。

$$\beta\text{-淀粉酶活性 (mg/min/mg prot)} = \text{淀粉酶总活性} - \alpha\text{-淀粉酶活性}$$

$$= 15.44 \times (\Delta A_{\text{总}} + 0.0148) - 3.09 \times (\Delta A_{\alpha\text{-淀粉酶}} + 0.0148) \div Cpr$$

(3) 液体样本中 β -淀粉酶活性计算

单位定义：每毫升液体每分钟催化产生 1mg 麦芽糖定义为 1 个酶活性单位。

$$\beta\text{-淀粉酶活性 (mg/min/mL)} = \text{淀粉酶总活性} - \alpha\text{-淀粉酶活性}$$

$$= 1.544 \times (\Delta A_{\text{总}} + 0.0148) - 0.309 \times (\Delta A_{\alpha\text{-淀粉酶}} + 0.0148)$$

5----总淀粉酶稀释倍数

V1----加入反应体系中样本体积，200 μ L =0.2 mL

V----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

$\Delta A_{\text{总}} = (A1 - A2)$

$\Delta A_{\alpha\text{-淀粉酶}} = (A3 - A4)$

附：标准曲线制作过程：

- 1 制备标准品母液（1mg/mL）：向标准品 EP 管里面加入 1mL 蒸馏水（母液需在两天内用且-20 $^{\circ}$ C保存）。
- 2 把母液稀释成六个浓度梯度的标准品：0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1. mg/mL。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
- 3 200 μ L 标准品+200 μ L 蒸馏水+450 μ L 试剂三，混匀，95 度水浴 5min，流水冷却，全部转移至 1mL 的玻璃比色皿中，540nm 处读取吸光值，以标准品质量为横坐标，吸光度值为纵坐标，即可制作标准曲线。

注意事项：

- 1、因提取液中含有蛋白质沉淀剂，因此上清液不能用于蛋白质浓度测定。如需测定蛋白质浓度，需另取组织测定
- 2、本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。
- 3、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期：

4 $^{\circ}$ C保存三个月。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.

注意：在体外研究使用，不用于诊断或治疗用途，本产品不是医疗装置。

