

β -淀粉酶 (β -amylase, β -AL) 试剂盒

(微量法 100T/48S)

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。

组成:

组分名称	SA012-100T/48S	Storage
试剂一	30ml	RT
试剂二	15ml	4°C
说明书	一份	

试剂一: 30ml \times 1 瓶, 常温保存, 若有黄色晶体析出, 需 90°C 加热溶解后再用;
试剂二: 15ml \times 1 瓶, 4°C 保存, 若出现沉淀析出, 需 70°C 加热溶解后再用。

自备仪器和用品:

可见分光光度计/酶标仪、恒温水浴锅、离心机、可调式移液器、微量石英比色皿/96 孔板、研钵和蒸馏水。

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°C 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 ($\alpha + \beta$) 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 ($\alpha + \beta$) 淀粉酶总活力的测定。

测定步骤:

最终解释权所有 © 伊势久 (江苏连云港) 生物科技有限责任公司, 保留一切权利



- 1、分光光度计或酶标仪预热 30min 以上，调节波长到 540 nm，蒸馏水调零。
- 2、试剂一和试剂二 40°C 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	75	75		

70°C 水浴 15min 左右，冷却

淀粉酶稀释液			75	75
蒸馏水	75		75	
试剂二		75		75

40°C 恒温水浴中准确保温 5min

试剂一	150	150	150	150
-----	-----	-----	-----	-----

混匀，95 度水浴 5min，冷却，取 200μl 至微量石英比色皿或 96 孔板中，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。

酶活性计算：

a. 用微量石英比色皿测定的计算公式如下

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。

最终解释权所有 © 伊势久 (江苏连云港) 生物科技有限责任公司，保留一切权利



总淀粉酶活性(mg/min/ml) = $5 \times [(A4 - A3 + 0.1778) \div 3.7215 \times V_{\text{反总}}] \div V_{\text{样}} \div T$
= $0.5375 \times (A4 - A3 + 0.1778)$

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 = $[5.375 \times (A4 - A3 + 0.1778) - 1.075 \times (A2 - A1 + 0.1778)] \div W$

(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 = $[0.5375 \times (A4 - A3 + 0.1778) - 0.1075 \times (A2 - A1 + 0.1778)] \div Cpr$

(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 = $0.5375 \times (A4 - A3 + 0.1778) - 0.1075 \times (A2 - A1 + 0.1778)$

5: 总淀粉酶稀释倍数; V 反总: 反应体系总体积, 0.15ml; V 样: 加入反应体系中样本体积, 0.075 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。

b. 用 96 孔板测定的计算公式如下

1、标准条件下测定回归曲线为 $y = 2.481x - 0.1778$; 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) = $[(\Delta A + 0.1778) \div 2.481 \times V_{\text{反总}}] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 1.612 \times (\Delta A + 0.1778) \div W$

(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) = $[(\Delta A + 0.1778) \div 2.481 \times V_{\text{反总}}] \div (V_{\text{样}} \times Cpr) \div T = 0.1612 \times (\Delta A + 0.1778) \div Cpr$

(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) = $[(\Delta A + 0.1778) \div 2.481 \times V_{\text{反总}}] \div V_{\text{样}} \div T = 0.1612 \times (\Delta A + 0.1778)$

3、总淀粉酶活性计算

(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。

总淀粉酶活性(mg/min/g 鲜重) = $5 \times [(A4 - A3 + 0.1778) \div 2.481 \times V_{\text{反总}}] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T$
= $8.06 \times (\Delta A + 0.1778) \div W$

(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) = $5 \times [(A4 - A3 + 0.1778) \div 2.481 \times V_{\text{反总}}] \div (V_{\text{样}} \times Cpr) \div T$
= $0.806 \times (A4 - A3 + 0.1778) \div Cpr$



(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。

$$\begin{aligned} \text{总淀粉酶活性(mg/min/ml)} &= 5 \times [(A4-A3 + 0.1778) \div 2.481 \times V_{\text{反总}}] \div V_{\text{样}} \div T \\ &= 0.806 \times (A4-A3 + 0.1778) \end{aligned}$$

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。

$$\beta\text{-淀粉酶活性(mg/min/g 鲜重)} = \text{淀粉酶总活性} - \alpha\text{-淀粉酶活性} = [8.06 \times (A4-A3 + 0.1778) - 1.612 \times (A2-A1 + 0.1778)] \div W$$

(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。

$$\beta\text{-淀粉酶活性 (mg/min/mg prot)} = \text{淀粉酶总活性} - \alpha\text{-淀粉酶活性} = [0.806 \times (A4-A3 + 0.1778) - 0.1612 \times (A2-A1 + 0.1778)] \div \text{Cpr}$$

(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。

$$\beta\text{-淀粉酶活性 (mg/min/ml)} = \text{淀粉酶总活性} - \alpha\text{-淀粉酶活性} = 0.806 \times (A4-A3 + 0.1778) - 0.1612 \times (A2-A1 + 0.1778)$$

5: 总淀粉酶稀释倍数; V 反总: 反应体系总体积, 0.15ml; V 样: 加入反应体系中样本体积, 0.075 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。

