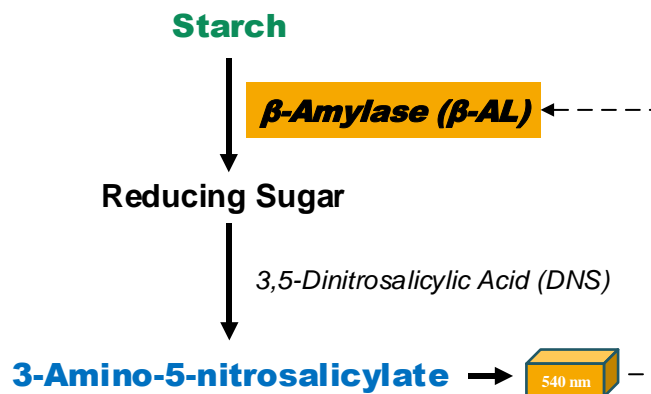




β -淀粉酶 (β -AL) 活性检测试剂盒
 β -Amylase (β -AL) Activity Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



β-淀粉酶 (β-AL) 活性检测试剂盒

β-Amylase (β-AL) Activity Assay Kit

一、产品描述

β-淀粉酶 (β-AL) 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。

淀粉酶能够催化淀粉水解生成还原糖，进一步与 3,5-二硝基水杨酸反应生成棕红色物质，产物在 540 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可表征淀粉酶的活性。根据 β-淀粉酶不耐热特性，通过加热钝化后测定 (α+β) 淀粉酶总活力和 α-淀粉酶活力，进而计算得出 β-淀粉酶的活性。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
试剂一	液体 60 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂二	粉剂×1 瓶	4°C 保存	使用前加入 30 mL 试剂三充分溶解 (置于沸水浴中不断混匀至完全溶解)
试剂三	液体 30 mL×1 瓶	4°C 保存	-
标准品	粉剂×1 支 (10 mg 葡萄糖标准品)	4°C 保存	使用前加入 1 mL 蒸馏水充分溶解 (即为 10 mg/mL 葡萄糖标准液)
标准稀释液的制备：将 10 mg/mL 葡萄糖标准液使用蒸馏水稀释至 0.5、0.25、0.125、0.0625、0.03125、0.015625 mg/mL。			

序号	A	1	2	3	4	5	6
稀释前浓度 (mg/mL)	10	1.0	0.5	0.25	0.125	0.0625	0.03125
标准液体积 (μL)	100	200	200	200	200	200	200
蒸馏水体积 (μL)	900	200	200	200	200	200	200
稀释后浓度 (mg/mL)	1.0	0.5	0.25	0.125	0.0625	0.03125	0.015625

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿/96 孔板、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴和蒸馏水。

1. 淀粉酶原液的制备 (可根据预实验结果适当调整样本量)

称取 0.1 g 样本, 加入 1 mL 蒸馏水后充分匀浆, 室温提取 15 min (每隔 5 min 振荡混匀 1 次), 6000 g 室温离心 10 min, 吸取全部上清液使用蒸馏水定容至 10 mL, 充分混匀即为淀粉酶原液。灭活酶原液的制备: 取适量淀粉酶原液, 沸水浴处理 5 min (密封以防止水分散失), 冷却至室温。

2. 淀粉酶稀释液的制备 (可根据预实验结果适当稀释倍数)

取适量淀粉原液使用蒸馏水稀释 5 倍后即为淀粉酶稀释液, 用于测定 $(\alpha+\beta)$ 淀粉酶总活力。灭活酶稀释液的制备: 取适量淀粉酶稀释液, 沸水浴处理 5 min (密封以防止水分散失), 冷却至室温。

3. 测定步骤

① 分光光度计/酶标仪预热 30 min 以上, 调节波长至 540 nm, 蒸馏水调零。

② 在离心管中依次加入下列试剂:

试剂	测定管 1 (μL)	对照管 1 (μL)	测定管 2 (μL)	对照管 2 (μL)	标准管 (μL)	空白管 (μL)
淀粉酶原液	100	-	-	-	-	-
灭活酶原液	-	100	-	-	-	-
标准稀释液	-	-	-	-	100	-
蒸馏水	-	-	-	-	-	100
充分混匀, 70°C 处理 15 min, 冷却至室温						
淀粉酶稀释液	-	-	100	-	-	-
灭活酶稀释液	-	-	-	100	-	-
试剂二	100	-	100	-	-	-
充分混匀, 40°C 准确反应 5 min						
试剂一	200	200	200	200	200	200
试剂二	-	100	-	100	100	100
充分混匀, 沸水浴处理 10 min, 冷却至室温						

注: 加热过程注意密封以防止水分散失。

吸光值测定: 取 200 μL 反应液至微量玻璃比色皿/96 孔板中, 测定 540 nm 处吸光值, 记为 A1 测定、A1 对照、A2 测定、A2 对照、A 标准和 A 空白; 计算 $\Delta A_{\alpha} = A1 \text{ 测定} - A1 \text{ 对照}$, $\Delta A_{(\alpha+\beta)} = A2 \text{ 测定} - A2 \text{ 对照}$, $\Delta A \text{ 标准} = A \text{ 标准} - A \text{ 空白}$ 。注: 每个测定管均需设一个对照管, 空白管只需测定 1-2 次。

标准曲线的建立: 以 0.5、0.25、0.125、0.0625、0.03125、0.015625 mg/mL 标准稀释液浓度为横坐标 (x), 以其对应的 ΔA 标准为纵坐标 (y), 绘制标准曲线, 得到线性回归方程 $y=kx+b$, 分别将 ΔA_{α} 和 $\Delta A_{(\alpha+\beta)}$ 带入公式中得到 x_{α} 和 $x_{(\alpha+\beta)}$ (mg/mL)。

3. β -淀粉酶 (β -AL) 活性计算

①按组织蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟催化生成 1 mg 还原糖定义为一个酶活力单位。

$$\alpha\text{-AL (U/mg prot)} = \frac{x_{\alpha} \times V_{\text{样}}}{V_{\text{样}} \times \text{Cpr} \times T} = \frac{0.2 \times x_{\alpha}}{\text{Cpr}}$$

$$(\alpha+\beta)\text{-AL (U/mg prot)} = \frac{5 \times x_{(\alpha+\beta)} \times V_{\text{样}}}{V_{\text{样}} \times \text{Cpr} \times T} = \frac{x_{(\alpha+\beta)}}{\text{Cpr}}$$

$$\beta\text{-AL (U/mg prot)} = \frac{5 \times x_{(\alpha+\beta)} \times V_{\text{样}}}{V_{\text{样}} \times \text{Cpr} \times T} - \frac{x_{\alpha} \times V_{\text{样}}}{V_{\text{样}} \times \text{Cpr} \times T} = \frac{x_{(\alpha+\beta)} - 0.2 \times x_{\alpha}}{\text{Cpr}}$$

②按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织每分钟催化生成 1 mg 还原糖定义为一个酶活力单位。

$$\alpha\text{-AL (U/g)} = \frac{x_{\alpha} \times V_{\text{样}} \times V_{\text{样总}}}{V_{\text{样}} \times W \times T} = \frac{2 \times x_{\alpha}}{W}$$

$$(\alpha+\beta)\text{-AL (U/g)} = \frac{5 \times x_{(\alpha+\beta)} \times V_{\text{样}} \times V_{\text{样总}}}{V_{\text{样}} \times W \times T} = \frac{10 \times x_{(\alpha+\beta)}}{W}$$

$$\beta\text{-AL (U/g)} = \frac{5 \times x_{(\alpha+\beta)} \times V_{\text{样}} \times V_{\text{样总}}}{V_{\text{样}} \times W \times T} - \frac{x_{\alpha} \times V_{\text{样}} \times V_{\text{样总}}}{V_{\text{样}} \times W \times T} = \frac{10 \times x_{(\alpha+\beta)} - 2 \times x_{\alpha}}{W}$$

注释： V 样：反应体系中加入淀粉酶原液/稀释液的体积，0.1 mL；V 样总：淀粉酶原液体积，10 mL；5：淀粉酶稀释液的稀释倍数；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；T：反应时间，5 min。

四、注意事项

①若 ΔA 测定超出标准线性吸光值范围：A 若超过最高值，建议将淀粉酶原液（淀粉酶稀释液）适当稀释或减少样本量重新制备淀粉酶原液后再进行测定；B 若低于最低值，建议更改淀粉酶原液（淀粉酶稀释液）制备过程中蒸馏水添加量或适当增加样本量重新制备淀粉酶原液后再进行测定，计算时相应修改；

②试剂二加入试剂三后可缓慢加热至煮沸，加热至溶液呈均一状态即可，若使用过程中出现沉淀 70°C 水浴加热溶解后再使用；

③为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

