

土壤淀粉酶检测试剂盒（可见分光光度法）

产品货号：BA1320

产品规格：50管/24样

产品简介：

淀粉酶（EC3.2.1.1）是催化淀粉水解的一类酶的总称。土壤中的淀粉酶主要来自于微生物，是一种重要的酶制剂，广泛应用于粮食加工、食品、酿造、发酵、纺织品工业和医药行业。

淀粉酶水解淀粉产生还原糖，可与3,5-二硝基水杨酸反应生成红棕色物质，在540nm处有特征吸收峰，颜色深浅在一定范围内与还原糖量成正比。

注意：实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

产品组成：

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体10mL×1瓶	4°C
试剂二	粉剂×1瓶	4°C
试剂三	液体65mL×1瓶	4°C
标准品	粉剂×1支	4°C

溶液的配制：

1. 试剂二：临用前加入5mL蒸馏水，置于常温水中并加热至煮沸，期间不断搅拌或震荡至粉剂溶解。
2. 标准品：10mg麦芽糖。临用前加入1.38mL蒸馏水配制成20 μ mol/mL的储备液。

需自备的仪器和用品：

天平、水浴锅、低温离心机、可见分光光度计、1mL玻璃比色皿、30~50目筛、研钵、甲苯（不允许快递）。

操作步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可参考文献）

新鲜土样自然风干或37°C烘箱风干，过30~50目筛。

二、测定步骤

1. 分光光度计预热30min，波长调至540nm，蒸馏水调零。
2. 将20 μ mol/mL的麦芽糖储备液用蒸馏水稀释为1、0.9、0.8、0.7、0.6、0.5、0.4、0.3 μ mol/mL的标准溶液备用。
3. 步骤：

试剂名称	测定管	对照管	标准管	空白管
土样（g）	0.1	0.1	-	-
甲苯（ μ L）	20	20	-	-
蒸馏水（ μ L）	-	200	-	-
试剂一（ μ L）	200	200	-	-
试剂二（ μ L）	200	-	-	-
充分震荡混匀，37°C水浴或37°C恒温箱培养24h，之后12000rpm，常温离心10min，取上清。			-	-
上清液（ μ L）	300	300	-	-



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

蒸馏水 (μL)	-	-	-	300
标准溶液 (μL)	-	-	300	-
试剂三 (μL)	700	700	700	700

充分混匀，沸水浴10min，至冰上冷却，于1mL玻璃比色皿中测定540nm处的吸光值，分别记为A对照管、A测定管、A标准管和A空白管，计算 $\Delta A_{测定} = A_{测定管} - A_{对照管}$ ， $\Delta A_{标准} = A_{标准管} - A_{空白管}$ 。（A空白管只需测1-2次）

三、土壤淀粉酶活力的计算

1. 标准曲线的绘制：

以标准溶液的浓度为 x 轴， ΔA 标准为 y 轴绘制标准曲线，得到标准方程 $y=kx+b$ 。将 ΔA 测定带入方程得到 x ($\mu\text{mol/mL}$)。

2. 酶活的计算：

单位的定义：每天每 g 土样产生 $1\mu\text{mol}$ 还原糖定义为一个土壤淀粉酶活力。

$$S\text{-AL (U/g 土样)} = x \times V \text{ 反总} \div W \div T = 0.42 \times x \div W$$

V 反总：酶促反应总体积，0.42mL；W：土样质量，g；T：反应时间，1d。

注意事项：

- 当 ΔA 大于 1 时，建议将上清液稀释后再进行测定，注意在计算公式中乘以稀释倍数。
- 若 ΔA 测定较小，增加反应的上清液体积或适当增加酶促反应时间，计算酶活时对公式进行修改。
- 建议每次实验煮沸后的冷却时间保持一致，吸光值请于 30min 内测定完成。

实验实例：

- 取 0.1g 三叶草土于 1.5mLEP 管中，依次加入 20 μL 甲苯、200 μL 试剂一、200 μL 试剂二为测定管；取 0.1g 三叶草土于 1.5mLEP 管中，依次加入 20 μL 甲苯、200 μL 试剂一、200 μL 蒸馏水为对照管，均放于 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养 24h，后离心取上清再液稀释 5 倍，之后按照测定步骤操作，测得计算 $\Delta A_{测定管} = A_{测定管} - A_{对照管} = 0.624 - 0.109 = 0.515$ ，标准曲线： $y = 1.289x - 0.2826$ ， $x = 0.6188$ ，按土样重量计算酶活：

$$S\text{-AL (U/g 土样)} = 0.42 \times x \div W \times 5 \text{ (稀释倍数)} = 0.42 \times 0.6188 \div 0.1 \times 5 \text{ (稀释倍数)} = 12.995 \text{ U/g 土样。}$$

参考文献：

- [1] Kathiresan K, Manivannan S. α -Amylase production by *Penicillium fellutanum* isolated from mangrove rhizosphere soil[J]. African journal of Biotechnology, 2006, 5(10).
- [2] Ebregt A, Boldewijn J. Influence of heavy metals in spruce forest soil on amylase activity, CO₂ evolution from starch and soil respiration[J]. Plant and Soil, 1977, 47(1): 137-148.



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
 Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com