

土壤淀粉酶（Soil Amylase, S-AL）试剂盒说明书

微量法100T/48S

注意：正式测定之前选择2-3个预期差异大的样本做预测定。

测定意义

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。

测定原理

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508nm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。

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/酶标仪、微量石英比色皿/96孔板、甲苯。

试剂的组成和配制

试剂一：液体10mL×1瓶，4℃保存。

试剂二：液体4mL×1瓶，4℃保存。若出现沉淀析出，需70℃加热溶解后再用。

试剂三：液体12mL×1瓶，4℃保存。

测定操作表

	对照管	测定管
土样（g）	0.02	0.02
甲苯（μL）	10	10
25℃静置15min		
试剂一（μL）	110	50
试剂二（μL）		60
充分混匀，37℃震荡1h，8000rpm，25℃，离心10min		
上清液（μL）	100	100
试剂三（μL）	100	100
充分混匀，90℃水浴5min，待冷却后，于微量石英比色皿/96孔板中测定508nm吸光值，分别记为A对照管和A测定管， $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ 。		

计算公式

a. 用微量石英比色皿测定的计算公式如下

标准曲线: $y = 0.2525x - 0.034$, $R^2 = 0.9917$

酶活单位定义: 每g土样每天催化生成1mg还原糖为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{S-AL (mg/d/g 鲜重)} &= (\Delta A + 0.034) \div 0.2525 \times V_{\text{反总}} \div W \div T \\ &= 10.464 \times (\Delta A + 0.034) \div W \end{aligned}$$

$V_{\text{反总}}$: 反应体系总体积, 0.11mL; T : 反应时间, 1/24d; W : 样本质量, g。

b. 用96孔板测定的计算公式如下

标准曲线: $y = 0.1263x - 0.034$, $R^2 = 0.9917$

酶活单位定义: 每g土样每天催化生成1mg还原糖为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{S-AL (mg/d/g)} &= (\Delta A + 0.034) \div 0.1263 \times V_{\text{反总}} \div W \div T \\ &= 20.928 \times (\Delta A + 0.034) \div W \end{aligned}$$

$V_{\text{反总}}$: 反应体系总体积, 0.11mL; T : 反应时间, 1/24d; W : 样本质量, g。

www.affandi-e.com