

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 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。

需自备的仪器和用品

天平、水浴锅、低温离心机、酶标仪、96 孔板、甲苯。

试剂的组成和配制

试剂一：液体 12mL×1 瓶，4℃ 保存。

试剂二：液体 8mL×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 14mL×1 瓶，4℃ 保存。

样品处理：

新鲜土样自然风干或 37℃ 烘箱风干，过 30~50 目筛。

测定加样表：

	对照管	测定管
土样 (g)	0.04	0.04
甲苯 (μL)	20	20
25℃ 静置 15min		
试剂一 (μL)	100	100
试剂二 (μL)		120
蒸馏水 (μL)	120	
充分混匀，37℃ 反应 24h，8000rpm，25℃，离心 10min		
上清液 (μL)	120	120
试剂三 (μL)	120	120
充分混匀，90℃ 水浴 5min，待冷却后，取 200μL 于 96 孔板中测定 540nm 处吸光值，分别记为 A 对照管和 A 测定管， $\Delta A = A \text{ 测定管} - A \text{ 对照管}$ 。每个测定管设一个对照管。		

计算公式

标准曲线： $y = 0.1263x - 0.034$ ， $R^2 = 0.9917$ ；x 为标准品浓度，mg/mL，y 为吸光值 ΔA 。

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。

$$\text{S-AL (mg/d/g 土样)} = (\Delta A + 0.034) \div 0.1263 \times V \text{ 反总} \div W \div T \\ = 47.51 \times (\Delta A + 0.034)$$

V 反总：反应体系总体积，0.24mL；T：反应时间，1d；W：样本质量，0.04g。