

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。

$S\text{-AL (mg/d/g 鲜重)} = (\Delta A + 0.034) \div 0.2525 \times V \text{ 反应} \div W \div T$

$$= 10.464 \times (\Delta A + 0.034) \div W$$

V 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 反总：反应体系总体积，0.11mL； T：反应时间，1/24d； W：样本质量，g。
