

土壤淀粉酶（Soil Amylase, S-AL）试剂盒说明书

分光光度法 50 管/24 样

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、可见分光光度计、水浴锅、低温离心机、1mL 玻璃比色皿、甲苯。

试剂的组成和配制：

试剂一：液体 25mL×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 30mL×1 瓶，4℃ 保存。

测定操作表：

	对照管	测定管
土样（g）	0.1	0.1
甲苯（ μL ）	30	30
25℃ 静置 15min		
试剂一（ μL ）	550	250
试剂二（ μL ）		300
充分混匀，37℃ 震荡 1h，8000rpm，25℃，离心 10min		
上清液（ μL ）	500	500
试剂三（ μL ）	500	500
充分混匀，90℃ 水浴 5min，待冷却后，用蒸馏水调零，于 1mL 玻璃比色皿中测定 508nm 各管吸光值，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：

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。

$$\begin{aligned} \text{S-AL (mg/d/g 鲜重)} &= (\Delta A + 0.034) \div 0.2525 \times V \text{ 反总} \div W \div T \\ &= 52.32 \times (\Delta A + 0.034) \div W \end{aligned}$$

V 反总：反应体系总体积，0.55mL； T：反应时间，1/24d； W：样本质量，g。