

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

**产品货号：GBQ065**

**产品规格：96T(40 samples)**

**检测仪器：酶标仪(535-540 nm)**

**Elabscience®淀粉酶比色法测试盒**  
 **$\alpha$  -Amylase And  $\beta$  -Amylase Activity Assay Kit**

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

电话：400-999-2100

邮箱：[biochemical@elabscience.cn](mailto:biochemical@elabscience.cn)

网址：[www.elabscience.cn](http://www.elabscience.cn)

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。

联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

用途

本试剂盒适用于检测血清、血浆、唾液、动物、植物组织样本中的淀粉酶活力。

检测原理

淀粉酶能将淀粉水解成各种还原糖，而还原糖与 3，5-二硝基水杨酸在加热条件下反应，生成棕红色物质，显色与产物浓度在一定范围内呈线性关系，通过产物产量来计算出淀粉酶活力。

本试剂盒检测组织样本时，需要测定总蛋白浓度，推荐使用 BCA 法(货号：GBQ162)。

提供试剂和物品

| 编号                 | 名称                                  | 规格<br>(Size)(96 T) | 保存方式<br>(Storage)  |
|--------------------|-------------------------------------|--------------------|--------------------|
| 试剂一<br>(Reagent 1) | 底物<br>(Substrate)                   | 10 mL×1 瓶          | 2-8℃<br>保存 6 个月    |
| 试剂二<br>(Reagent 2) | 显色剂<br>(Chromogenic Agent)          | 20 mL×1 瓶          | 2-8℃ 避光<br>保存 6 个月 |
| 试剂三<br>(Reagent 3) | 10 mg/mL 标准品<br>(10 mg/mL Standard) | 1.5 mL×1 支         | 2-8℃<br>保存 6 个月    |
|                    | 96 孔酶标板                             | 96 孔×1 块           | 无要求                |
|                    | 96 孔覆膜                              | 2 张                |                    |
|                    | 样本位置标记表                             | 1 张                |                    |

说明：试剂严格按上表中的保存条件保存，不同测试盒中的试剂不能混用。  
对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。

所需自备物品

仪器：酶标仪(535-540 nm，最佳检测波长 540 nm)，恒温水浴锅(95℃)

试剂准备

- ① 检测前，试剂盒中的试剂一、二、三平衡至室温。
- ② 样本检测前，试剂一、二40℃预热10 min，试剂二如果有固体析出，需70-80℃水浴加热溶解，流水冷却至40℃后待用。
- ③ 不同浓度标准品的稀释：

| 编号               | ①    | ②   | ③   | ④   | ⑤   | ⑥   | ⑦   | ⑧   |
|------------------|------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| 标准品浓度(mg/mL)     | 0    | 0.2 | 0.4 | 0.6 | 0.8 | 1.0 | 1.2 | 1.4 |
| 10 mg/mL 标准品(μL) | 0    | 20  | 40  | 60  | 80  | 100 | 120 | 140 |
| 双蒸水(μL)          | 1000 | 980 | 960 | 940 | 920 | 900 | 880 | 860 |

## 样本准备

### ① 样本处理

组织样本：称取 0.1 g 组织样本，加入 0.9 mL 双蒸水，研磨匀浆(也可机械匀浆)，收集匀浆液至离心管中，匀浆液在室温下放置提取 15 min，每 5 min 振荡一次(10 s)，使其充分提取，提取完成后，室温条件下， $3000 \times g$ ，离心 10 min，取上清加双蒸水定容至 10 mL，混匀，待测。

血清(浆)等液体样本：稀释合适倍数后，直接测定。

### ② 样本的稀释

在正式检测前，需选择2-3个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验，根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围：0.01-0.37 U/mL，请参考下表稀释(仅供参考)：

| 样本  | 稀释倍数  | 样本      | 稀释倍数  |
|-----|-------|---------|-------|
| 人血清 | 10-15 | 大鼠血清    | 15-25 |
| 人血浆 | 10-15 | 小鼠血清    | 15-25 |
| 人唾液 | 15-25 | 1%玉米粒匀浆 | 2-5   |

注：稀释液为双蒸水。

## 实验关键点

- ① 试剂一中若有沉淀析出，需 70-80℃ 加热溶解后，冷却至 40℃ 待用。
- ② 试剂二中若有黄色固体析出，需 70-80℃ 加热溶解后，冷却至 40℃ 待用。
- ③ 显色完成后，若有沉淀，可室温条件下  $4000 \times g$  离心 5 min，取上清测定。
- ④ 当绝对 OD 值大于 0.800 时，需要适当稀释。

## 操作步骤

### 标准曲线部分

- ① 取 16 个 1.5 mL 的 EP 管，并编号 A-H，每个编号两管，分别取 75  $\mu$ L 不同浓度标准品，加入到对应的标准管中。
- ② 向①中各标准管加入 75  $\mu$ L 试剂一。
- ③ 向②中各标准管加入 150  $\mu$ L 试剂二。
- ④ 混匀 3 s，95°C 水浴 5 min，流水冷却后，取 250  $\mu$ L 到酶标板中，酶标仪 540 nm 处，测定各孔 OD 值。

### 样本部分

- ① 对照管、测定管：取 75  $\mu$ L 待测样本加入到对照管、测定管中。
- ② 对照管：向①中对照管加入 75  $\mu$ L 双蒸水。  
测定管：向①中测定管加入 75  $\mu$ L 试剂一。
- ③ 40°C 反应 5 min。
- ④ 向③中各管加入 150  $\mu$ L 试剂二。
- ⑤ 混匀 3 s，95°C 水浴 5 min，流水冷却后，取 250  $\mu$ L 到酶标板中，酶标仪 540 nm 处，测定各孔 OD 值。

操作表

标曲操作表

|                                                                       | 标准管 |
|-----------------------------------------------------------------------|-----|
| 不同浓度标准品(μL)                                                           | 75  |
| 试剂一(μL)                                                               | 75  |
| 试剂二(μL)                                                               | 150 |
| 混匀 3 s, 95℃ 水浴 5 min, 流水冷却后, 取 250 μL 到酶标板中, 酶标仪 540 nm 处, 测定各孔 OD 值。 |     |

样本操作表

|                                                                        | 对照管 | 测定管 |
|------------------------------------------------------------------------|-----|-----|
| 待测样本(μL)                                                               | 75  | 75  |
| 双蒸水(μL)                                                                | 75  | --  |
| 试剂一(μL)                                                                | --  | 75  |
| 40℃ 反应 5 min                                                           |     |     |
| 试剂二(μL)                                                                | 150 | 150 |
| 混匀 3 s 后, 95℃ 水浴 5 min, 流水冷却后, 取 250 μL 到酶标板中, 酶标仪 540 nm 处, 测各孔 OD 值。 |     |     |

本试剂盒检测组织样本时, 需测定总蛋白浓度, 推荐使用 BCA 法(货号: GBQ162)。

## 结果计算

**标准品拟合曲线:**  $y = ax + b$

**血清(浆)等液体样本的结果计算:**

**定义:** 每毫升血清(浆)每分钟催化产生 1 mg 还原糖为 1 个酶活单位。

$$\text{淀粉酶活力 (U/mL)} = (\Delta A - b) \div a \times V_3 \div t \div V_2 \times f$$

**组织样本的结果计算:**

**定义:** 每克组织每分钟催化产生 1 mg 还原糖为 1 个酶活单位。

$$\text{淀粉酶活力 (U/g 组织)} = (\Delta A - b) \div a \times V_3 \div t \div w \times \frac{V_1}{V_2} \times f$$

**或者定义:** 每毫克组织蛋白每分钟催化产生 1 mg 还原糖为 1 个酶活单位

$$\text{淀粉酶活力 (U/mgprot)} = (\Delta A - b) \div a \times V_3 \div t \div V_2 \times f \div C_{pr}$$

**注解:**

y: 标准品 OD 值-空白 OD 值(标准品浓度为 0 时的 OD 值)

x: OD 值对应的浓度

a: 标准曲线斜率

b: 标准曲线截距

$\Delta A$ : 样本测定 OD 值-对照 OD 值

$V_3$ : 酶促反应体积(0.15 mL)

$V_2$ : 加入反应体系中的样本体积(0.075 mL)

$V_1$ : 组织样本制备时的体积(10 mL)

t: 酶促反应时间(5 min)

f: 样本加入检测体系前的稀释倍数

w: 组织样本处理时所用的样本质量(0.1 g)

$C_{pr}$ : 样本加入检测体系前的蛋白浓度(mgprot/mL)

## 附录1 关键数据

### 1. 技术参数

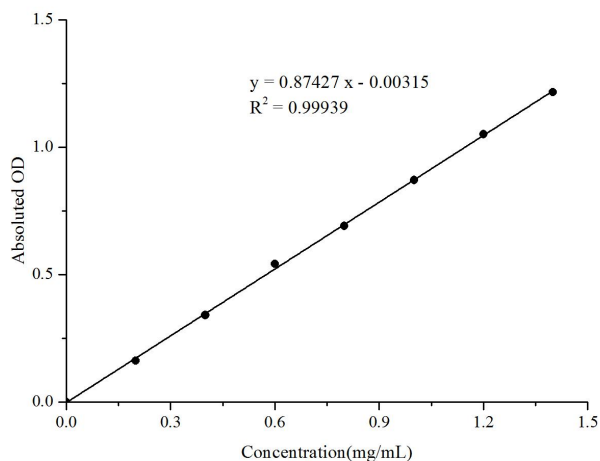
|       |                |       |       |
|-------|----------------|-------|-------|
| 检测范围  | 0.01-0.37 U/mL | 平均批间差 | 3.6 % |
| 灵敏度   | 0.008 U/mL     | 平均批内差 | 2.8 % |
| 平均回收率 | 97 %           |       |       |

### 2. 标准曲线(数据仅供参考)

#### ①标准品浓度测定数据：

| 标准品浓度<br>(mg/mL) | 0     | 0.2   | 0.4   | 0.6   | 0.8   | 1.0   | 1.2   | 1.4   |
|------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| OD 值             | 0.144 | 0.310 | 0.483 | 0.688 | 0.829 | 1.016 | 1.224 | 1.361 |
|                  | 0.144 | 0.301 | 0.486 | 0.684 | 0.840 | 1.013 | 1.164 | 1.356 |
| 平均 OD 值          | 0.144 | 0.305 | 0.484 | 0.686 | 0.834 | 1.015 | 1.194 | 1.359 |
| 绝对 OD 值          | 0.000 | 0.161 | 0.341 | 0.542 | 0.691 | 0.871 | 1.050 | 1.215 |

#### ②绘制标曲(如下图)：





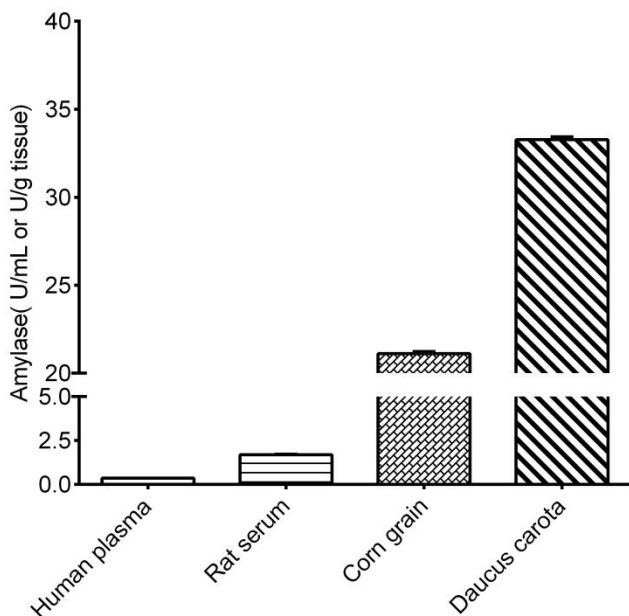
## 附录2 实例分析

例如检测大鼠血清(数据仅供参考):

取10  $\mu\text{L}$  大鼠血清, 用双蒸水稀释25倍, 之后按照说明书操作, 结果如下:  
标准曲线:  $y = 0.8729x - 0.0112$ , 测定孔平均OD值为0.299, 对照孔平均OD值为0.162, 计算结果为:

$$\text{淀粉酶活力} = (0.299 - 0.162 + 0.0112) \div 0.8729 \times 0.15 \div 5 \div 0.075 \times 25 = 1.70 \text{ U/mL (U/mL)}$$

按照说明书操作, 测定人血浆(稀释5倍, 加样量75  $\mu\text{L}$ )、大鼠血清(稀释25倍, 加样量75  $\mu\text{L}$ )、1%玉米粒匀浆(稀释5倍, 加样量75  $\mu\text{L}$ )和1%胡萝卜匀浆(稀释5倍, 加样量75  $\mu\text{L}$ )中淀粉酶活力含量(如下图):



### 附录3 问题答疑

| 问题                 | 可能原因           | 建议解决方案          |
|--------------------|----------------|-----------------|
| 绝对 OD 值低           | OD 值太高         | 按照标准品稀释表重新稀释标准品 |
|                    | 样本值低           | 按照计算公式进行计算      |
| 样本测不出值             | 样本稀释倍数太大       | 选择合适稀释倍数, 重新检测  |
|                    | 样本保存时间过长或者保存不当 | 取新鲜样本, 重新检测     |
| 样本测量结果 > 0.56 U/mL | 样本浓度太高         | 选择合适稀释倍数, 重新检测  |

#### 声明

1. 试剂盒仅供研究使用, 如将其用于临床诊断或任何其他用途, 我公司将不对因此产生的问题负责, 亦不承担任何法律责任。
2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器, 严格按照说明书进行实验。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围。如果样品中待测物浓度过高或过低, 请对样本做适当的稀释或浓缩。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中, 建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责, 不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责, 使用前请充分考虑样本可能的使用量, 预留充足的样本。

## 附录4 客户发表文献

1. Yuni Hong, Yun-Hyeok Choi, Young-Eun Han, et al. Central Administration of Ampelopsin A Isolated from *Vitis vinifera* Ameliorates Cognitive and Memory Function in a Scopolamine-Induced Dementia Model[J]. *Antioxidants-Basel*. 2021 Jun; 10(6):835. IF:6.312
2. Li Q, R Cebrián, M Montalbán-López, et al. Outer-membrane-acting peptides and lipid II-targeting antibiotics cooperatively kill Gram-negative pathogens[J]. *Communications Biology*, 2021, 4(1). IF:6.268
3. Naseh A, Shirin B, Maryam M, et al. Attenuation of chronic arsenic neurotoxicity via melatonin in male offspring of maternal rats exposed to arsenic during conception: Involvement of oxidative DNA damage and inflammatory signaling cascades[J]. *Life Sciences* 266 (2021) 118876. IF:5.037
4. Baek S Y, Li F Y, Kim D H, et al. Enteromorpha prolifera extract improves memory in scopolamine-treated mice via downregulating amyloid- $\beta$  expression and upregulating BDNF/TrkB pathway[J]. *Antioxidants*, 2020, 9(7): 620. IF:5.014
5. Aydinoglu F, Ad?belli E?, Y?lmaz-Oral D, Ogulener N. Involvement of RhoA/Rho-kinase in l-cysteine/H2S pathway-induced inhibition of agonist-mediated corpus cavernosal smooth muscle contraction. *Nitric Oxide*. 2019;85:54 欵?60. IF:3.371
6. Cui Y, Wang Y, Liu G. Protective Effect of Barbaloin in a Rat Model of Myocardial Ischemia Reperfusion Injury Through the Regulation of the CNPY2?PERK Pathway[J]. *International Journal of Molecular Medicine*, 2019. IF:2.928
7. Altaf S, Muhammad F, Aslam B, et al. Cell membrane enveloped polymeric nanosponge for detoxification of chlorpyrifos poison: In vitro and in vivo studies[J]. *Human & Experimental Toxicology*, 2021, 40(8):1286-1295. IF:2.903
8. Song Q Q, NIN J P, Zhang S Y, et al. Effects of Simulated Heat Wave and Ozone on High Fat Diet ApoE Deficient Mice[J]. *Biomedical and Environmental Sciences*, 2018, 31(10): 757-768. IF:2.518
9. Wang L, Yang Y, Cui Q, et al. Evaluating the added predictive ability of MMP-9 in serum for Kawasaki disease with coronary artery lesions[J]. *Journal of Investigative Medicine*, 2020. IF:2.304
10. Yilmaz-Oral D, Kaya-Sezginer E, Oztekin C V, et al. Evaluation of combined therapeutic effects of hydrogen sulfide donor sodium hydrogen sulfide and phosphodiesterase type-5

inhibitor tadalafil on erectile dysfunction in a partially bladder outlet obstructed rat model[J]. *Neurourology and Urodynamics*, 2020, 39(4): 1087-1097. IF:2.037

11. Yilmaz E, Kaya-Sezginer E, Yilmaz-Oral D, et al. Effects of Hydrogen Sulphide Donor, Sodium Hydrosulphide Treatment on the Erectile Dysfunction in L-NAME-induced Hypertensive Rats[J]. *Andrologia*, 2019. IF:1.84
12. Tian J, Wang L, Hui S, et al. Cadmium accumulation regulated by a rice heavy-metal importer is harmful for host plant and leaf bacteria. *J Adv Res*. 2022.