

土壤N-乙酰-β-D-葡萄糖苷酶（Solid-N-acetyl-β-D-glucosidase, S-NAG）试剂盒说明书

微量法 100管/48样

正式测定前务必取2-3个预期差异较大的样本做预测定

测定意义：

S-NAG是溶酶体中的一种酸性水解酶，由土壤微生物分泌。S-NAG活性变化与机体某些病理状态密切相关。

测定原理：

S-NAG分解β-N-乙酰氨基葡萄糖苷生成对-硝基苯酚，后者在400nm有最大吸收峰，通过测定吸光值升高速率来计算NAG活性。

自备仪器和样品：

可见分光光度计/酶标仪、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、微量石英比色皿/96孔板、甲苯（不允许快递）和蒸馏水。

试剂组成和配制：

试剂一：甲苯5mL×1瓶，4℃保存；（自备）

试剂二：粉剂×1瓶，-20℃保存；临用前加入10mL蒸馏水，充分溶解备用，用不完的试剂仍-20℃保存；

试剂三：液体20mL×1瓶，4℃保存；

试剂四：液体15mL×1瓶，4℃保存；

样品处理：

新鲜土样自然风干或37度烘箱风干，过30~50目筛。

测定步骤：

1、分光光度计或酶标仪预热30min以上，调节波长至400nm，蒸馏水调零。

2、加样表

试剂名称	测定管	对照管
风干土样（g）	0.02	0.02
试剂一（μL）	10	10
	室温振荡混匀15min	90℃振荡混匀15min
试剂二（μL）	130	
蒸馏水		130
试剂三（μL）	160	160

混匀，37℃振荡反应1h后，90℃水浴5min（盖紧，防止水分散失），流水冷却，

10000g 25°C离心10min, 取上清液 (在EP管或96孔板中加入下列试剂)

上清液 (μL)	70	70
试剂四 (μL)	130	130

充分混匀, 室温静置2min后, 400nm处测定吸光值A, 计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ 。每个测定管设一个对照管。

土壤N-乙酰-β-D-葡萄糖苷酶 (Solid-N-acetyl-β-D-glucosidase, S-NAG) 试剂盒说明书 S-NAG活力计算:

a.用微量石英比色皿测定的计算公式如下

标准条件下测定的回归方程为 $y = 0.00645x - 0.0054$; x为标准品浓度 (μmol/L), y为吸光值。

单位的定义: 每天每g土样中产生1 μmol对-硝基苯酚定义为一个酶活力单位。

$$\text{S-NAG活力 (}\mu\text{mol/d/g 土样)} = (\Delta A + 0.0054) \div 0.00645 \times V_{\text{反总}} \div W \div T = 55.81 \times (\Delta A + 0.0054)$$

T: 反应时间, 1h=1/24d; V反总: 反应体系总体积: 3×10^{-4} L; W: 样本质量, 0.02g。

b.用96孔板测定的计算公式如下

标准条件下测定的回归方程为 $y = 0.0043x - 0.0054$; x为标准品浓度 (μmol/L), y为吸光值。

单位的定义: 每天每g土样中产生1 μmol对-硝基苯酚定义为一个酶活力单位。

$$\text{S-NAG活力 (}\mu\text{mol/d/g 土样)} = (\Delta A + 0.0054) \div 0.0043 \times V_{\text{反总}} \div W \div T = 83.72 \times (\Delta A + 0.0054)$$

T: 反应时间, 1h=1/24d; V反总: 反应体系总体积: 3×10^{-4} L; W: 样本质量, 0.02g。