

上海茁彩生物科技有限公司
ZCIBIO Technology Co., Ltd



生化检测原理示意图

Cat. NO: ZC-S0897

Size: 100T/48S

土壤 N-乙酰- β -D-葡萄糖苷酶 (S-NAG) 检测试剂盒说明书

微量法

*正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

一、测定意义:

土壤 N-乙酰- β -D-葡萄糖苷酶 (S-NAG) 是土壤微生物分泌的溶酶体中的一种酸性水解酶。其活性变化与机体某些病理状态密切相关。

二、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。

三、需自备的仪器和用品:

可见分光光度计/酶标仪、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96 孔板、研钵、冰、30-50 目筛 (或更小) 和蒸馏水。

四、试剂的组成和配置:

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
试剂一	液体 30mL $\times$ 1 瓶	4°C 保存	
试剂二	粉剂 $\times$ 1 瓶	-20°C 保存	临用前加入 2mL 丙酮溶解, 用不完的试剂仍 -20°C 保存;
试剂三	液体 30mL $\times$ 1 瓶	4°C 保存	
标准品	液体 1mL $\times$ 1 支	4°C 保存	5 mmol/L 的对硝基苯酚溶液, 临用前用试剂一将标准品稀释 50 倍得 100 μ mol/L 的标准溶液

五、操作步骤：

● 样本处理：

新鲜土样自然风干或 37℃烘箱风干，过 30-50 目筛。

● 测定步骤：

1. 分光光度计/酶标仪预热 30min，波长调至 400nm，蒸馏水调零。

2. 加样表：

试剂名称	测定管	对照管	标准管	空白管
风干土样 (g)	0.03	0.03	—	—
试剂一 (μL)	165	165	—	—
试剂二 (μL)	15	—	—	—
混匀，37℃水浴 1h 后，立即沸水浴 5min（盖紧，防止水分散失），流水/冰浴冷却。				
试剂二 (μL)	—	15	—	—
12000g 25℃离心 10min，取上清液			—	—
上清液 (μL)	100	100	—	—
标准品 (μL)	—	—	100	—
蒸馏水 (μL)	—	—	—	100
试剂三 (μL)	200	200	200	200
室温静置 2min 后，10000g 常温离心 5min，吸取 200 μL 上清于微量玻璃比色皿或直接在 96 孔板中，测定 400nm 处的吸光值 A。分别记为 A 测定管、A 对照管、A 标准管、A 空白管。计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$ 。每个测定管设一个对照管。				

六、S-NAG 活力计算：

单位的定义：每天每 g 土样中产生 $1\ \mu\text{mol}$ 对硝基苯酚定义为一个酶活力单位。

$$\text{S-NAG 活力 (U/g 土样)} = \Delta A \div (\Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{标准}}) \times V_{\text{反应}} \div W \div T$$

$$= 0.432 \times \Delta A \div \Delta A_{\text{标准}} \div W。$$

T: 反应时间, $1\text{h}=1/24\text{d}$; $V_{\text{反应}}$: 反应体系总体积: $1.8 \times 10^{-4}\text{L}$; C 标准: 标准溶液浓度, $100\ \mu\text{mol/L}$; W: 样本质量。

七、注意事项：

当 ΔA 大于 1 时，建议将上清液稀释后进行测定；当 ΔA 小于 0.02 时，建议延长反应时间。计算公式中注意乘以稀释倍数或注意反应时间变化。