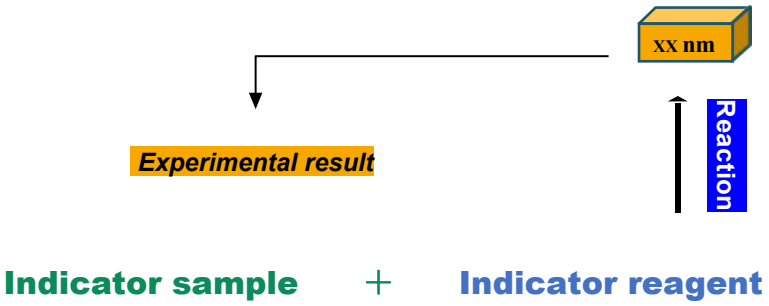
上海茁彩生物科技有限公司

Shanghai zcibio technology Co.,Ltd.



生化检测原理示意图

货号：ZC-S0898　　规格：50管/24样

土壤 N-乙酰-β-D-葡萄糖苷酶（S-NAG）活性检测试剂盒说明书
可见分光光度法

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。

产品内容：

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
试剂一	液体40mL×1瓶	4℃保存	-
试剂二	粉剂×1瓶	-20℃保存	临用前加入3mL 丙酮溶解，用不完的试剂仍-20℃保存
试剂三	液体60mL×1瓶	4℃保存	-
标准品	液体1mL×1支	4℃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100μmol/L 的标准溶液。

产品说明：

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。

S-NAG分解对硝基苯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。

自备实验用品及仪器：

可见分光光度计、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、1mL玻璃比色皿、研钵、冰、30-50目筛（或更小）和蒸馏水。

操作步骤：

一、样本处理：

新鲜土样自然风干或37℃烘箱风干，过30-50目筛。

二、测定步骤：

1　分光光度计预热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）	0.1	0.1	–	–
试剂一（μL）	550	550	–	–
试剂二（μL）	50	–	–	–
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）	–	50	–	–
12000g 25℃离心10min，取上清液			–	–
上清液（μL）	500	500	–	–
标准品（μL）	–	–	500	–
蒸馏水（μL）	–	–		500
试剂三（μL）	1000	1000	1000	1000
室温静置2min 后，10000g 常温离心5min，取上清测定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ΔA=A 测定管-A 对照管，ΔA标准=A标准管-A空白管。每个测定管设一个对照管。				

三、**S-NAG** 活力计算：

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。

S-NAG活力（U/g 土样）＝ΔA÷（ΔA标准÷C标准）×V 反总÷W÷T =1.44× ΔA÷ ΔA标准÷W。

T：反应时间，1h=1/24d；V 反总：反应体系总体积：6×10^{-4} L；C标准：标准溶液浓度，100μmol/L； W：样本质量，g。

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。