



土壤 N-乙酰-β-D-葡萄糖苷酶活性检测试剂盒

NAG Assay Kit

微量法

产品编号: AK439M

产品规格: 100T/48S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
AK439-A	甲苯	4℃保存 (自备)
AK439-B	粉剂×1 瓶	-20℃保存; 临用前加入 5mL 蒸馏水, 充分溶解备用; 剩余试剂-20℃分装保存 4 周;
AK439-C	10mL×1 瓶	4℃保存
AK439-D	8mL×1 瓶	4℃保存
AK439-标准品	1mL×1 支	4℃保存

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

简介:

意义: 土壤 N-乙酰-β-D-葡萄糖苷酶 (Solid-N-acetyl-β-D-glucosidase, 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 活性变化与某些土壤微生物生理状态密切相关。

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、微量石英比色皿/96 孔板、甲苯 (不允许快递) 和蒸馏水。

粗酶液提取:

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. 酶标仪或分光光度计预热 30min 以上, 调节波长至 400nm, 蒸馏水调零。
2. 标准品制备: 临用前取 100 μL 标准液, 加入到 400 μL 试剂 C 中, 得到 1 mmol/L 标准液 (即 1000 μmol/L), 再用蒸馏水稀释到待用标准液浓度 100 μmol/L。
3. 加样表:

试剂名称	测定管 (μL)	对照管 (μL)	标准管 (μL)	空白管 (μL)
风干土样 (g)	0.02g	0.02g		
AK439-A	10	10		
	室温振荡混匀 15min	90℃振荡混匀 15min		
蒸馏水		130		
AK439-B	130			
AK439-C	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℃离心 10min, 取上清液 (在 EP 管或 96 孔板中加入下列试剂)				

上清液	70	70		
标准溶液			70	
蒸馏水				70
AK439-D (μL)	130	130	130	130
充分混匀，室温静置 2min 后，400nm 处测定吸光值 A，分别记为 A 对照管，A 测定管，A 标准管，A 空白管。计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$ 。每个测定管需设一个对照管（标准管只需检测 1-2 次）				

S-NAG 活性计算：

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) = $\Delta A_{\text{测定}} \div (\Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{标准}}) \times V_{\text{反应}} \div W \div T = 36 \times \Delta A \div \Delta A_{\text{标准}}$

注：C 标准：标准溶液浓度，100 μmol/L；T：反应时间，1h=1/24d；V 反应：反应体系总体积：3×10⁻⁴L；W：样本质量，0.02g。