



土壤 N-乙酰-β-D-葡萄糖苷酶活性检测试剂盒 S-NAG Assay Kit

可见分光光度法

产品编号：AK439V

产品规格：50T/24S

产品组成及保存条件：

编号	规格	储存条件
AK439-A	甲苯 5mL	4°C保存（自备）
AK439-B	粉剂×2 瓶	-20°C保存；临用前加入 6mL 蒸馏水，充分溶解备用；剩余试剂-20°C分装保存 4 周
AK439-C	25mL×1 瓶	4°C保存
AK439-D	50mL×1 瓶	4°C保存
AK439-标准品	1ml×1 支（5 mmol/L）	4°C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、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、1mL 玻璃比色皿、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：

- 分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 400nm，蒸馏水调零。
- 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。
- 加样表：

试剂名称	测定管	对照管	标准管	空白管
风干土样 (g)	0.05	0.05		
AK439-A (μL)	25	25		
	室温振荡混匀 15min	90°C振荡混匀 15min		
蒸馏水 (μL)		400		
AK439-B (μL)	400			
AK439-C (μL)	500	500		
	混匀，37°C振荡反应 1h 后，90°C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			
上清液 (μL)	500	500		
标准品 (μL)			500	

蒸馏水 (μL)				500
AK439-D (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 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) = $\Delta A_{\text{测定}} \div (\Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{标准}}) \times V_{\text{反应}} \div W \div T = 44.4 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}}$

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: 9.25×10^{-4} L;

W: 样本质量, 0.05g。