

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

分光光度法 50 管/24 样

注 意：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。

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×2 瓶，-20℃保存；临用前每瓶加入 6mL 蒸馏水，充分溶解备用，用不完的试剂仍-20℃保存；

试剂三：液体 25mL×1 瓶，4℃保存；

试剂四：液体 50mL×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：

试剂名称	测定管	对照管
风干土样（g）	0.05	0.05
试剂一（μL）	25	25
	室温振荡混匀 15min	90℃振荡混匀 15min
试剂二（μL）	400	
蒸馏水（μL）		400
试剂三（μL）	500	500

混匀，37℃振荡反应 1h 后，立即 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

上清液（μL）	500	500
试剂四（μL）	1000	1000

充分混匀，室温静置 2min 后，400nm 处蒸馏水调零，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。

S-NAG 活力计算:

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 ($\mu\text{mol/L}$), y 为吸光值。

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。

$\text{S-NAG 活力} (\mu\text{mol/d/g 土样}) = (\Delta A + 0.0054) \div 0.00645 \times V \text{ 反总} \div W \div T = 68.84 \times (\Delta A + 0.0054)$

T : 反应时间, $1\text{h} = 1/24\text{d}$; $V \text{ 反总}$: 反应体系总体积: $9.25 \times 10^{-4} \text{ L}$; W : 样本质量, 0.05g 。