

土壤 N-乙酰- $\beta$ -D-葡萄糖苷酶(Solid-N-acetyl- $\beta$ -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  $\beta$ -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 (μmol/L)，y 为吸光值。

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。

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

T：反应时间，1h=1/24d； V 反总：反应体系总体积：9.25×10<sup>-4</sup>L； W：样本质量，0.05g。

Lifemall.asia

To be with you