

土壤 N-乙酰-β-D-葡萄糖苷酶 (NAG) 活性检测试剂盒说明书

货号: RX826W48

规格: 100 管/48 样

方法: 酶标仪法

一、注意事项

1. 使用前请通读一遍说明书再开始实验。
2. 正式检测前选取 2~3 个预期差异较大的样本进行预检测。
3. 本试剂盒仅用于科研。

二、产品组分

试剂名称	试剂规格	保存条件	备注
试剂一 (甲苯)	自备	常温避光	棕色瓶保存, 分析纯
试剂二	20 mL ×1	4°C	
试剂三	粉剂 ×1	-20°C避光	临用前加入 8 mL 蒸馏水
试剂四	22 mL×1	4°C	

三、仪器和用品

酶标仪、96 孔板、移液器、天平、可降温离心机、超纯水/蒸馏水、水浴锅、培养箱。

四、样品制备

新鲜土样自然风干或 37°C 烘箱风干, 过 60 目筛备用。

五、测定步骤

1. 酶标仪预热 30 min 以上, 波长调至 400 nm 处。
2. 将水浴锅调至 95°C。
2. 在 1.5 mL 离心管中依次加入 (加入下列试剂时确保准确, 降低误差):

试剂名称	测定管	对照管
风干土样 (g)	0.02	0.02
试剂一	10	10
震荡混匀 15 min。		
试剂二 (μL)	170	170
试剂三 (μL)	140	-

蒸馏水 (μL)	-	140
混匀，恒温培养箱或水浴锅 37°C培养 1h，95°C水浴 5 min（盖紧盖子，防止水分散失），冰上冷却后，常温 10000 g 离心 10 min，按下表取上清加入新的 1.5 mL 离心管，并加入下表试剂		
上清液 (μL)	200	200
试剂四 (μL)	200	200
充分混匀，室温放置 2 min 显色，显色完成后吸取 200 μL 加入 96 孔板中，在 400 nm 下测定吸光值 A，分别记 A 测定管、A 对照管。计算ΔA 测定=A 测定管-A 对照管（每个测定管需设置一个对照管）。		

六、计算

1.标准方程

标准条件下测得回归方程为 $y = 3.5858x + 0.0107$ ；x 为标准品浓度 (μmol/mL)，y 为吸光值 ΔA。

2.单位定义

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。

土壤 N-乙酰-β-D-葡萄糖苷酶 (S-NAG) 活性 (μmol/d/g 土样) = $(\Delta A - 0.0107) \div 3.5858 \times V \text{ 反总} \div W \div T = 2.142 \times (\Delta A - 0.0107) \div W$

T: 反应时间, 1h = 1/24 d; V 反总: 反应体系总体积: 0.32 mL; W: 样本质量, 0.02 g。

七、产品简介

土壤 N-乙酰-β-D-葡萄糖苷酶是一种酸性水解酶，由土壤微生物分泌。在有机物分解和养分循环中起关键作用，其活性变化可反映土壤健康状况。