

## 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  $\text{g}$  土样中产生  $1 \mu\text{mol}$  对-硝基苯酚定义为一个酶活力单位。

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 反总: 反应体系总体积:  $9.25 \times 10^{-4} \text{L}$ ; W: 样本质量,  $0.05\text{g}$ 。