

土壤淀粉酶 (S-AL) 试剂盒说明书

(货号: ADS-W-TR038 微板法 48 样)

有效期: 6 个月

一、产品简介:

土壤中的淀粉酶主要来自于微生物, 是一种重要的酶制剂。淀粉酶可水解淀粉产生还原糖, 本试剂盒采用 3,5-二硝基水杨酸与终产物还原糖反应生成棕红色物质, 在 540nm 处有特征吸收峰, 进而得到土壤淀粉酶活性。

二、测试盒组成和配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	粉体 1 瓶	4°C 保存	临用前加入 60ml 试剂二, 可 80°C 水浴, 搅拌至溶解, 待用。
试剂二	液体 120mL×1 瓶	4°C 保存	
试剂三	液体 12mL×EP 管	4°C 保存	
标准品	粉剂 1 支	4°C 保存	若重新做标曲, 则用到该试剂。

三、所需的仪器和用品:

酶标仪、96 孔板、天平、水浴锅、低温离心机、甲苯。

四、土壤淀粉酶 (S-AL) 活性检测:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定, 了解本批样品情况, 熟悉实验流程, 避免实验样本和试剂浪费!

1、样本处理:

取新鲜土样或风干土壤, 先粗研磨, 过 40 目筛网, 待测备用。

【注】: 土壤风干, 减少土壤中水分对于实验的干扰; 土壤过筛, 保证取样的均匀细腻;

2、上机检测:

① 培养: 在 EP 管依次加入:

试剂 (μL)	测定管	对照管
土样 (g)	0.1	0.1
甲苯	40	40
25°C 静置 15min		
试剂一	1000	
试剂二		1000
充分混匀, 37°C 培养 1h, 12000rpm, 25°C 离心 10min, 上清液待用		

② 酶标仪预热 30min 以上, 调节波长为 540nm。

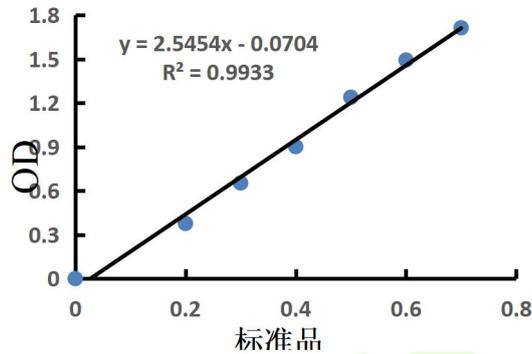
③ 显色反应: 在 EP 管中依次加入:

上清液	200	200
试剂三	100	100
混匀, 95°C 水浴 5min, 待冷却后, 取 200μL 于 96 孔板中, 在 540nm 处读取吸光值 A, $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ 。		

【注】若 ΔA 在零附近徘徊, 可增加土样质量 (如增至 0.2g), 或延长培养时间 (如增至 3h 或更长), 则改变后的土样质量和反应时间 T 代入公式重新计算。

五、结果计算:

1、标准曲线方程: $y = 2.5454x - 0.0704$; x 为标准品质量 (mg/mL), y 为 ΔA 。



2、酶活单位定义: 每克土样每小时催化生成 $1\mu\text{g}$ 葡萄糖为一个酶活力单位。

$$S\text{-AL}(\mu\text{g/h/g 土样}) = [(\Delta A + 0.0704) \div 2.5454 \times 10^3 \times V] \div W \div T$$

$$= 408.6 \times (\Delta A + 0.0704) \div W$$

V---反应总体积, $1040\mu\text{L} = 1.04\text{mL}$;

T--反应时间, 1h;

W--土壤样本实际取样量, g;

附: 标准曲线制作过程:

- 1 制备标准品母液 (1mg/mL): 从标准品管中称量取出 2mg 至一新 EP 管中, 再加 2mL 蒸馏水混匀溶解即 1mg/mL 的葡萄糖 (母液需在两天内用且 -20°C 保存)。
- 2 把母液用蒸馏水稀释成六个浓度梯度的标准品: $0, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7\text{mg/mL}$ 。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
- 3 在显色反应阶段, 按照测定管加样表操作, 依据结果即可制作标准曲线。