

土壤淀粉酶 (Soil Amylase, S-AL) 试剂盒说明书

(货号: ADS-F-TR038 分光法 24 样 有效期: 6 个月)

一、指标介绍:

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:

试剂组分	试剂规格	存放温度	注意事项
试剂一	粉体 1 瓶	4°C 保存	1. 临用前加入 30ml 试剂二, 可 80°C 水浴, 搅拌至溶解, 待用; 2. 保存周期与试剂盒有效期相同。
试剂二	液体 60mL×1 瓶	4°C 保存	
试剂三	液体 15mL×1 瓶	4°C 避光保存	
标准品	粉剂 1 支	4°C 保存	1. 若重新做标曲, 则用到该试剂; 2. 按照说明书中标曲制作步骤进行配制; 3. 溶解后的标品一周内用完。

三、实验器材:

研钵 (匀浆机)、冰盒 (制冰机)、台式离心机、可调式移液枪、水浴锅 (烘箱、培养箱、金属浴)、1ml 比色皿、离心管、分光光度计、甲苯、蒸馏水 (去离子水、超纯水均可)。

四、指标测定:

建议先选取 1-3 个差异大的样本 (例如不同类型或分组) 进行预实验, 熟悉操作流程, 根据预实验结果确定或调整样本浓度, 以防造成样本或试剂不必要的浪费!

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、检测步骤:

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 分光光度计预热 30min 以上, 调节波长为 540nm, 蒸馏水调零。

③ 显色反应: 在 EP 管中依次加入:

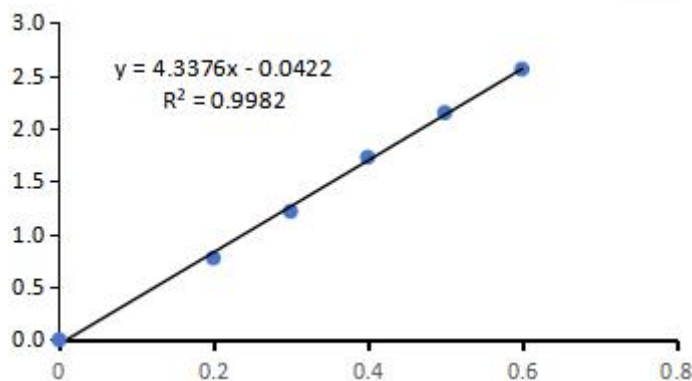
上清液	600	600
试剂三	300	300

混匀，95℃水浴 5min，待冷却后，全部转移到 1mL 玻璃比色皿（光径 1cm）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： $y = 4.3376x - 0.0422$ ；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 1μg 葡萄糖为一个酶活力单位。

$$S\text{-AL}(\mu\text{g/h/g 土样}) = [(\Delta A + 0.0422) \div 4.3376 \times 10^3 \times V] \div W \div T$$

$$= 239.8 \times (\Delta A + 0.0422) \div W$$

V---反应总体积：1040μL=1.04mL；

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 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℃ 保存）。将母液用蒸馏水稀释成六个浓度梯度的标准品，例如：0, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6mg/mL。也可根据实际样本调整标准品浓度。

2 标品稀释参照表如下：

吸取标准品母液 1200uL，加入 800uL 蒸馏水，混匀得到 0.6mg/mL 的标品稀释液待用。						
标品浓度 mg/mL	0	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6
标品稀释液 uL	0	120	240	360	480	600
水 uL	600	480	360	240	120	0
各标准管混匀待用。						

3 依据显色反应阶段测定管的加样表操作，根据结果，以各浓度吸光值减去 0 浓度吸光值，过 0 点制作标准曲线。

试剂名称（μL）	标准管	0 浓度管（仅做一次）
标品	600	
蒸馏水		600

试剂三	300	300
混匀，95℃水浴 5min，待冷却后，全部转移到 1mL 玻璃比色皿（光径 1cm）中，在 540nm 处读取吸光值 A， $\Delta A = A$ 测定-0 浓度管。		