

土壤淀粉酶 (Soil Amylase, S-AL) 试剂盒说明书

(货号: G0318W 微板法 48 样)

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 mg×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 mg×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。

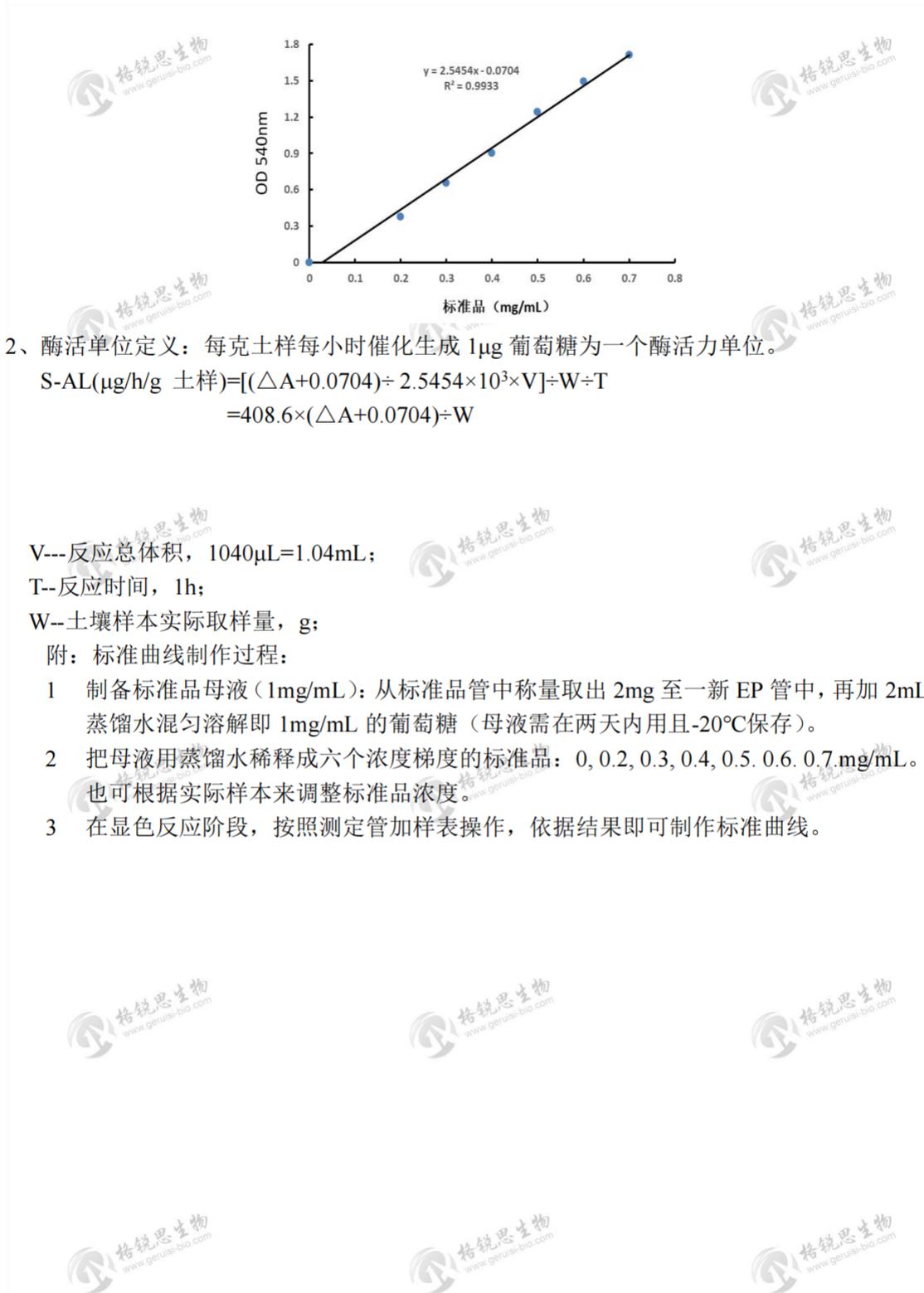
③ 显色反应:在 EP 管中依次加入:

试剂	测定管	对照管
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 为标准品浓度（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。

$$\begin{aligned} S\text{-AL}(\mu\text{g/h/g 土样}) &= [(\Delta A + 0.0704) \div 2.5454 \times 10^3 \times V] \div W \div T \\ &= 408.6 \times (\Delta A + 0.0704) \div W \end{aligned}$$

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 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。