

土壤淀粉酶（Soil Amylase, S-AL）试剂盒说明书

（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℃ 保存	临用前加入 60ml 试剂二,可 80℃水浴,搅拌至溶解,待用。
试剂二	液体 120mL×1 瓶	4℃ 保存	
试剂三	液体 30mL×EP 管	4℃ 保存	
标准品	粉剂 mg×1 支	4℃ 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；土壤过粗细两次筛，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℃ 静置 15min		
试剂一	1000	
试剂二		1000
充分混匀，37℃ 培养 1h，12000rpm，25℃ 离心 10min，上清液待用		

② 酶标仪预热 30min 以上，调节波长为 540nm。

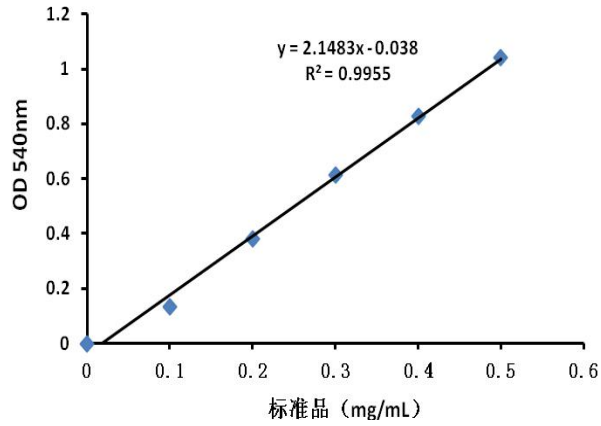
③ 显色反应：在 EP 管中依次加入：

上清液	100	100
试剂三	200	200
混匀，90℃ 水浴 5min，待冷却后，取 200 μL 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： $y = 2.1483x - 0.038$ ；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 μ g 葡萄糖为一个酶活力单位。

$$S\text{-AL}(\mu\text{g/h/g 土样})=[(\Delta A+0.038)\div 2.1483\times 10^3\times V]\div W\div T$$

$$=484.1\times(\Delta A+0.038)\div W$$

V---反应总体积：1040 μ L=1.04mL；

T---反应时间，1h；

W---土壤样本实际取样量；

附：标准曲线制作过程：

- 1 制备标准品母液（1mg/mL）：向标准品 EP 管里面加入 1ml 蒸馏水（母液需在两天内用且-20 $^{\circ}$ C保存）。
- 2 把母液稀释成六个浓度梯度的标准品：0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5. 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。