CheKine™ 土壤淀粉酶（S-AL）活性检测试剂盒（微量法）

Cat #: KTB4030 Size: 48 T/48 S 96 T/96 S

	土壤淀粉酶（S-AL）活性检测试剂盒（微量法）		
REF	**货号：**KTB4030	LOT	**批号：**见产品标签
	适用样本：土壤样本		
	保质期：4℃，避光保存 12 个月		

原理

淀粉酶（EC3.2.1.1）是催化淀粉水解的一类酶的总称。土壤中的淀粉酶主要来自于微生物，淀粉酶水解淀粉产生还原糖，可与 3,5-二硝基水杨酸反应生成红棕色物质，在 540 nm 处有特征吸收峰，颜色深浅在一定范围内与还原糖量成正比。

包装清单

试剂盒组分	规格		储存条件
	48 T	96 T	
Reagent Ⅰ	12 mL	24 mL	4℃
Reagent Ⅱ	Powder×1 vial	Powder×1 vial	4℃
ReagentⅢ	15.6 mL	31.2 mL	4℃
Standard	Powder×1 vial	Powder×1 vial	4℃，避光保存

注意：正式检测前，建议选择 2-3 个预期差异较大的样本进行预实验。

自备耗材

- 酶标仪或可见分光光度计（能测 540 nm 处的吸光度）
- 96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头
- 恒温水浴锅、恒温摇床、台式离心机、30-50 目筛
- 去离子水、甲苯

试剂准备

Reagent Ⅰ：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

Working Reagent Ⅱ：临用前配制，48 T 加入 7.2 mL 去离子水，96 T 加入 14.4 mL 去离子水，置于 70℃水浴，期间不断搅拌或震荡至溶解。用不完的试剂 4℃保存一周。

ReagentⅢ：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

Not for further distribution without written consent.Copyright © Abbkine, Inc.

注意：ReagentIII有一定的刺激性，建议在使用过程中做好个人防护。

标准品制备：

Standard：临用前配制，加入 1 mL 去离子水配成 10 mg/mL 的葡萄糖标准液；4℃避光保存 2 周。按照下表所示，进一步稀释标准品：

序号	10 mg/mL Standard (μL)	去离子水的体积 (μL)	浓度 (mg/mL)
Std.1	40	160	2
Std.2	20	180	1
Std.3	10	190	0.5
Std.4	5	195	0.25
Std.5	2.5	197.5	0.125
Std.6	1.25	198.75	0.063
Blank	0	200	0

注意：每次实验都要做一次标准品检测，制作标曲；稀释后的标准品溶液不稳定，必须在 4 小时内使用。

样本制备

注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存 1 个月。测定时，应控制解冻的温度和时间。室温环境下解冻时，需在 4 h 内完成样品解冻。

新鲜土样自然风干或 37℃烘箱风干，过 30-50 目筛。

实验步骤

1. 酶标仪或可见分光光度计预热 30 min，调节波长到 540 nm。可见分光光度计用去离子水调零。
2. 操作表（下述操作在 1.5 mL EP 管中进行）：

试剂	对照管（μL）	测定管（μL）	标准管（μL）	空白管（μL）
风干土样（g）	0.04	0.04	0	0
甲苯	20	20	0	0
25℃静置 15 min				
Reagent Ⅰ	100	100	0	0
Working Reagent Ⅱ	0	120	0	0
去离子水	120	0	0	0
混匀，37℃恒温摇床震荡 24 h，25℃，8,000 rpm，离心 10 min，取上清				
样本上清	120	120	0	0
Standard	0	0	120	0
去离子水	0	0	0	120

Not for further distribution without written consent.Copyright © Abbkine, Inc.

Reagent Ⅲ	120	120	120	120

3. 充分混匀，90℃水浴 5 min，待冷却后，取 200 μL 至微量玻璃比色皿/96 孔板中测定 540 nm 吸光值，分别记为 $A_{对照}$、$A_{测定}$、$A_{标准}$、$A_{空白}$，计算$\Delta A_{测定}=A_{测定}-A_{对照}$、$\Delta A_{标准}=A_{标准}-A_{空白}$。

注意：1. 空白孔和标准孔只需测定 1 次，每次试验需设置对照组。实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。2. 每次实验 90℃水浴后的冷却时间保持一致，请于 30 min 内完成测定。

结果计算

注意：我们为您提供的计算公式，包括推导过程计算公式和简洁计算公式。两者完全相等。建议以加粗的简洁计算公式为最终计算公式。

1. 标准曲线的绘制：

以标准溶液浓度为 x 轴，$\Delta A_{标准}$为 y 轴，绘制标准曲线，得到标准方程，将$\Delta A_{测定}$带入方程得到 x (mg/mL)。

2. 酶活的计算：

单位的定义：每天每 g 土样产生 1 mg 还原糖定义为一个土壤淀粉酶活力。

S-AL(U/g 土样)=$x\times V_{反总}\div W\div T$**=6×x**

$V_{反总}$：酶促反应总体积，0.24 mL；W：土样质量，0.04 g；T：反应时间，1 d。

结果展示

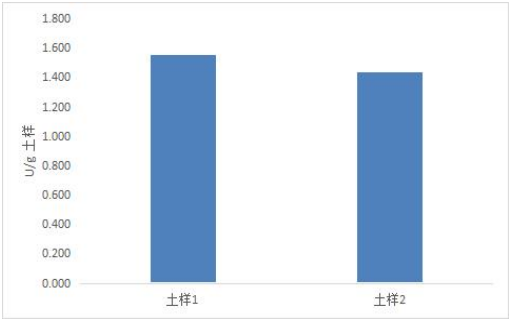


Figure 1. 本试剂盒测定土壤中淀粉酶的活性

相关产品

Catalog No.	Product Name
KTB4010	CheKine™ 土壤硝酸还原酶(S-NR)活性检测试剂盒(微量法)
KTB4020	CheKine™ 土壤亮氨酸氨基肽酶（S-LAP）活性检测试剂盒(微量法)

免责声明

本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

Abbkine, Inc • • www.abbkine.com
Not for further distribution without written consent.Copyright © Abbkine, Inc.