

土壤 α -葡萄糖苷酶(S- α -GC)活性检测试剂盒说明书

微量法

注意：本产品试剂有所变动，请注意并严格按照该说明书操作。

货号：BC3085

规格：100T/48S

产品组成：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体 0.5mL×1 支（自备）	2-8℃保存
试剂二	粉剂×2 瓶	-20℃保存
试剂三	液体 15 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂四	液体 30 mL×1 瓶	2-8℃保存
标准品	液体 1 mL×1 支	2-8℃保存

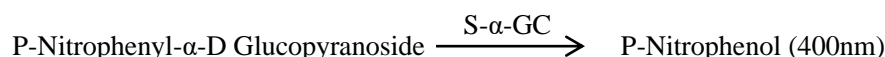
溶液的配制：

- 1、试剂一：自备甲苯，2-8℃保存；
- 2、试剂二：临用前取 1 瓶加入 5 mL 蒸馏水，充分溶解备用，用不完的试剂-20℃分装保存 4 周；
- 3、标准品：5 mmol/L 的对硝基苯酚溶液。

产品说明：

S- α -GC能够催化水解芳基或烃基与糖基原子团之间的糖苷键生成葡萄糖，是纤维素分解酶系中重要组成成分之一，在土壤微生物的糖类代谢方面具有重要生理功能。

S- α -GC能够催化对-硝基苯- α -D-吡喃葡萄糖苷生成对-硝基苯酚，后者在400nm有特征光吸收。



注意：实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、台式离心机、恒温培养箱/水浴锅、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96孔板、30-50 目筛、研钵、甲苯（不允许快递）和蒸馏水。

操作步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可参考文献）

新鲜土样自然风干或 37℃烘箱风干，过 30-50 目筛。

二、测定步骤

- 1、分光光度计/酶标仪预热30min，调节波长至400nm，分光光度计蒸馏水调零。
- 2、标准品：取20 μ L 5mmol/L的对硝基苯酚溶液，加入980 μ L蒸馏水，充分混匀，配制成100 μ mol/L标准液使用，现用现配。（实验中每管需要100 μ L，为减小实验误差，故配制大体积。）
- 3、加样表：

试剂名称	测定管	对照管	标准管	空白管
风干土样 (g)	0.02	0.02	-	-
试剂一 (μL)	5	5	-	-
振荡混匀, 使土样润湿, 室温放置15min			-	-
试剂二 (μL)	80	-	-	-
试剂三 (μL)	100	100	-	-
混匀, 37°C水浴1h 后, 立即沸水浴5min (盖紧, 防止水分散失), 流水/冰浴冷却。			-	-
试剂二 (μL)	-	80	-	-
10000rpm 25°C离心10min, 取上清液			-	-
上清液 (μL)	100	100	-	-
标准品 (μL)	-	-	100	-
蒸馏水 (μL)	-	-	-	100
试剂四 (μL)	200	200	200	200

充分混匀, 室温静置 2min 后, 测定吸光值 A, 分别记为 A 测定管、A 对照管、A 标准管、A 空白管。计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$, $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$ 。每个测定管设一个对照管。标准管和空白管只需做 1-2 次

三、S- α -GC 活力计算

单位的定义: 每天每g土样中产生1 μ mol对-硝基苯酚定义为一个酶活力单位。

$$S-\alpha\text{-GC活力 (U/g 土样)} = \Delta A \div (\Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{标准}}) \times V_{\text{反总}} \div W \div T = 0.444 \times \Delta A \div \Delta A_{\text{标准}} \div W$$

T: 反应时间, 1h=1/24d; V反总: 反应体系总体积: 1.85×10^{-4} L; C标准: 标准溶液浓度, 100 μ mol/L; W: 样本质量, g。

注意事项:

若 $\Delta A < 0.01$, 可延长37°C水浴时间; 若 $\Delta A > 1.5$, 可将上清液稀释后进行测定; 最后计算时注意各个因素的改变。

实验实例:

1、取两管 0.02g 三叶草土, 即为测定管和对照管, 按照测定步骤操作, 用 96 孔板测得计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}} = 0.421 - 0.238 = 0.183$, $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}} = 0.473 - 0.047 = 0.426$, 计算酶活得:

$$S-\alpha\text{-GC活力 (U/g 土样)} = 0.444 \times \Delta A \div \Delta A_{\text{标准}} \div W = 0.444 \times 0.183 \div 0.426 \div 0.02 = 9.5366 \text{ U/g 土样。}$$

2、取两管 0.02g 林土样, 即为测定管和对照管, 按照测定步骤操作, 用 96 孔板测得计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}} = 0.374 - 0.225 = 0.149$, $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}} = 0.473 - 0.047 = 0.426$, 计算酶活得:

$$S-\alpha\text{-GC活力 (U/g 土样)} = 0.444 \times \Delta A \div \Delta A_{\text{标准}} \div W = 0.444 \times 0.149 \div 0.426 \div 0.02 = 7.7648 \text{ U/g 土样。}$$

相关系列产品:

BC0160/BC0165 土壤 β -葡萄糖苷酶 (S- β -GC) 活性检测试剂盒

BC4040/BC4045 土壤中性转化酶 (S-NI) 活性检测试剂盒

BC0240/BC0245 土壤蔗糖酶 (S-SC) 活性检测试剂盒