

上海茁彩生物科技有限公司
ZCIBIO Technology Co., Ltd



生化检测原理示意图

Cat. NO: ZC-S0854

Size: 50T/24S

土壤 α -葡萄糖苷酶(S- α -GC)检测试剂盒说明书

可见分光光度法

*正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

一、测定意义:

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。

二、测定原理:

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,产物略显黄色,在 400nm 有特征光吸收。

三、需自备的仪器和用品:

可见分光光度计、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、1mL 玻璃比色皿、冰、甲苯(不允许快递)和蒸馏水。

四、试剂的组成和配置:

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
试剂一	甲苯 5mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二	粉剂×2 瓶	-20℃保存	临用前每瓶加入 10mL 蒸馏水,充分溶解备用,用不完的试剂仍-20℃保存;
试剂三	液体 40mL×1 瓶	4℃保存	
试剂四	液体 80mL×1 瓶	4℃保存	
标准品	液体 1mL×1 支	4℃保存	5mmol/L 的对硝基苯酚溶液

五、标准样品的准备：

取100 μL 标准液,加入到 400 μL 试剂三中,得到1mmol/L 标准液,十倍稀释到 100 $\mu\text{mol/L}$,用蒸馏水倍比稀释: 50、25、12.5、6.25 $\mu\text{mol/L}$ 。100、50、25、12.5、6.25 $\mu\text{mol/L}$ 做标准液。

六、操作步骤：

1、分光光度计预热 30min 以上, 调节波长至 400nm, 蒸馏水调零。

2、加样表：

试剂名称	测定管	对照管	标准管	空白管
风干土样 (g)	0.05	0.05	—	—
试剂一 (μL)	25	25	—	—
振荡混匀, 使土样全部湿润, 室温放置 15min				
试剂二 (μL)	400	—	—	—
试剂三 (μL)	500	500	—	—
混匀, 37°C水浴 1h 后, 立即沸水浴煮沸 5min (盖紧, 防止水分散失), 流水冷却				
试剂二 (μL)	—	400	—	—
充分混匀, 10000g 常温离心 10min, 取上清液				
上清液 (μL)	500	500	—	—
标准液 (μL)	—	—	500	—
蒸馏水 (μL)	—	—	—	500
试剂四 (μL)	1000	1000	1000	1000

充分混匀, 室温静置 2min 后, 400nm 处蒸馏水调零, 测定吸光值 A, 计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ 。每个测定管设一个对照管。

标准曲线建立：根据标准管的浓度（y）和吸光度 ΔA （A 标准管-A 空白管，x），建立标准曲线。

七、S- α -GC 活力的计算：

根据标准曲线，将 ΔA （x）带入公式计算样品浓度（ $\mu\text{mol/L}$ ）。

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

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

T：反应时间，1h=1/24d；V 反总：反应体系总体积： $9.25 \times 10^{-4}\text{L}$ ；W：样本质量，0.05g。