

上海茁彩生物科技有限公司
Shanghai zcibio technology Co., Ltd.



生化检测原理示意图

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：正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

产品简介：

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，产物略显黄色，在 400nm 有特征光吸收。

试验中所需的仪器和试剂：

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

产品内容：

| 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 | 自备 |
| 试剂二 | 粉剂×1 瓶 | -20℃保存 | 临用前每瓶加入 13mL 蒸馏水，充分溶解备用，用不完的试剂仍-20℃保存； |
| 试剂三 | 液体 30mL×1 瓶 | 4℃保存 | - |
| 试剂四 | 液体 20mL×1 瓶 | 4℃保存 | - |
| 标准品 | 液体×1 支 | 4℃保存 | 5mmol/L 的对硝基苯酚溶液 |

标准样品的准备：

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

操作步骤：

1、分光光度计或酶标仪预热 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) | 0.02 | 0.02 | - | - |
| 试剂一 (μL) | 10 | 10 | - | - |
| 振荡混匀, 使土样全部湿润, 室温放置 15min | | | | |
| 试剂二 (μL) | 130 | - | - | - |
| 试剂三 (μL) | 160 | 160 | - | - |
| 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) | - | 130 | - | - |
| 充分混匀, 10000g 常温离心 10min, 取上清液 | | | | |
| 上清液 (μL) | 70 | 70 | - | - |
| 标准液 (μL) | - | - | 70 | - |
| 蒸馏水 (μL) | - | - | - | 70 |
| 试剂四 (μL) | 130 | 130 | 130 | 130 |

充分混匀, 室温静置 2min 后, 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 $\Delta A = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$ (x), 建立标准曲线。

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 $1 \mu\text{mol}$ 对-硝基苯酚定义为一个酶活力单位。

S-α-GC 活力 (U/g 土样) = $y \times V_{\text{反应}} \div W \div T = 0.36 \times y$

T: 反应时间, 1h=1/24d; V 反应: 反应体系总体积: $3 \times 10^{-4}\text{L}$; W: 样本质量, 0.02g。