

# 土壤 $\alpha$ -葡萄糖苷酶(S- $\alpha$ -GC)活性检测试剂盒说明书

可见分光光度法

货号: AC10550

规格: 50T/24S

**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, 有疑问请及时联系本公司工作人员。**

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体 2 mL×1 瓶 (自备)	4°C保存
试剂二	粉剂×2 瓶	-20°C保存
试剂三	液体 30 mL×1 瓶	4°C保存
试剂四	液体 60 mL×1 瓶	4°C保存
标准品	液体 1 mL×1 支	4°C保存

溶液的配制:

- 1、试剂一: 自备甲苯, 4°C保存;
- 2、试剂二: 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°C保存;
- 3、标准品: 5 mmol/L 的对硝基苯酚溶液。

## 产品说明:

S- $\alpha$ -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- $\alpha$ -GC能够催化对-硝基苯- $\alpha$ -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、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、1mL玻璃比色皿、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°C烘箱风干, 过 30-50 目筛。

### 二、测定步骤

- 1、分光光度计预热30min, 调节波长至400nm, 蒸馏水调零。
- 2、标准品: 临用前用蒸馏水将标准品稀释50倍得100 $\mu$ mol/L的标准溶液。
- 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)	0.1	0.1	-	-
试剂一 ( $\mu$ L)	25	25	-	-

振荡混匀，使土样润湿，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5min（盖紧，防止水分散失），流水/冰浴冷却。			-	-
试剂二 (μL)	-	400	-	-
10000rpm 25°C离心10min，取上清液			-	-
上清液 (μL)	500	500	-	-
标准品 (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，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 $\Delta A = A$ 测定管-A对照管， $\Delta A$ 标准=A标准管-A空白管。每个测定管设一个对照管。

### 三、S-α-GC活力计算

单位的定义：每天每g土样中产生1μmol对-硝基苯酚定义为一个酶活力单位。

$$S-\alpha-GC \text{活力 (U/g 土样)} = \Delta A \div (\Delta A \text{标准} \div C \text{标准}) \times V \text{反总} \div W \div T = 2.22 \times \Delta A \div \Delta A \text{标准} \div W$$

T：反应时间，1h=1/24d；V反总：反应体系总体积：9.25×10<sup>-4</sup>L；C标准：标准溶液浓度，100μmol/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0.1g三叶草土，即为测定管和对照管，按照测定步骤操作，测得计算 $\Delta A = A$ 测定管-A对照管=0.677-0.369=0.308， $\Delta A$ 标准=A标准管-A空白管=0.702-0.007=0.695，计算酶活得：

$$S-\alpha-GC \text{活力 (U/g 土样)} = 2.22 \times \Delta A \div \Delta A \text{标准} \div W = 2.22 \times 0.308 \div 0.695 \div 0.1 = 9.8383 \text{ U/g 土样。}$$

2、取两管0.1g林土样，即为测定管和对照管，按照测定步骤操作，测得计算 $\Delta A = A$ 测定管-A对照管=0.629-0.361=0.268， $\Delta A$ 标准=A标准管-A空白管=0.702-0.007=0.695，计算酶活得：

$$S-\alpha-GC \text{活力 (U/g 土样)} = 2.22 \times \Delta A \div \Delta A \text{标准} \div W = 2.22 \times 0.268 \div 0.695 \div 0.1 = 8.5606 \text{ U/g 土样。}$$