

土壤 α -葡萄糖苷酶 (S- α -GC) 检测试剂盒 (微量法)

产品货号: BA1317

产品规格: 100管/48样

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,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。

产品组成:

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体0.5mL×1支(自备)	4℃
试剂二	粉剂×2瓶	-20℃
试剂三	液体15mL×1瓶	4°C
试剂四	液体30mL×1瓶	4℃
标准品	液体1mL×1支	4°C

溶液的配制:

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

需自备的仪器和用品:

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、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,具体比例可以参考文献)

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340nm,蒸馏水调零。
- 2. 标准品: 临用前用试剂三将标准品稀释50倍得100μmol/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)	0.02	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℃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℃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2 \min 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 Δ A=A测定管-A对照管, Δ 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-α-GC活力(U/g土样)= Δ A÷ (Δ A标准÷C标准)×V反总÷W÷T=0.444× Δ A÷ Δ A标准÷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, $100\mu mol/L$; W: 样本质量,g。

注意事项:

若ΔA<0.01,可延长 37℃水浴时间;若ΔA>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 $\Delta A=A$ 测定管-A 对照管=0.421-0.238=0.183, ΔA 标准=A 标准管-A 空白管=0.473-0.047=0.426,计算酶活得:
 - S-α-GC 活力(U/g 土样)=0.444×ΔA÷ΔA 标准÷W=0.444× 0.183÷ 0.426÷0.02=9.5366 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 $\Delta A=A$ 测定管-A 对照管=0.374-0.225=0.149, ΔA 标准=A 标准管-A 空白管=0.473-0.047=0.426,计算酶活得:
 - S-α-GC 活力(U/g 土样)=0.444×ΔA÷ΔA 标准÷W=0.444× 0.149÷ 0.426÷0.02=7.7648 U/g 土样。