



土壤 α -葡萄糖苷酶活性检测试剂盒

S- α -GC Assay Kit

分光光度法

产品编号: AK436V

产品规格: 50T/24S

产品组成及保存条件:

| 编号 | 规格 | 储存条件 |
|------------|--------------|---|
| AK436-A | 5mL×1 瓶 (甲苯) | 4°C保存 (自备) |
| AK436-B | 粉剂×2 瓶 | -20°C保存; 临用前加入6mL 蒸馏水, 充分溶解备用, 剩余试剂仍-20°C保存 |
| AK436-C | 25mL×1 瓶 | 4°C保存 |
| AK436-D | 50mL×1 瓶 | 4°C保存 |
| AK-436-标准品 | 1mL×1 支 | 4°C保存 |

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

简介:

意义: α -葡萄糖苷酶 (Solid- α -Glucosidase, 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。

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, 后者在 400nm 有特征光吸收。

自备用品:

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、甲苯 (不允许快递) 和蒸馏水。

粗酶液提取:

新鲜土样自然风干或 37 度烘箱风干, 过 30~50 目筛。

测定步骤:

- 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。
- 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 500 μ L, 为减小实验误差, 故配制大体积)。
- 样本测定, (在 EP 管中依次加入下列试剂):

| 试剂名称 | 测定管 (μ L) | 对照管 (μ L) | 标准管 (μ L) | 空白管 (μ L) |
|---|-----------------|-------------------|----------------|----------------|
| 风干土样 | 0.05 g | 0.05 g | | |
| AK436-A | 25 | 25 | | |
| | 室温振荡混匀 15min | 90°C振荡混匀 15min | | |
| AK436-B | 400 | | | |
| 蒸馏水 | | 400 | | |
| AK436-C | 500 | 500 | | |
| 混匀, 37°C振荡反应 1h 后, 立即 90°C水浴 5min (盖紧, 防止水分散失), 流水冷却10000g 25°C离心 10min, 取上清液 | | | | |
| 上清液 | 500 | 500 | | |
| 标准溶液 | | | 500 | |
| 蒸馏水 | | | | 500 |
| AK436-D | 1000 | 1000 | 1000 | 1000 |

充分混匀，室温静置 2min 后，测定 400nm 处吸光值 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。

S- α -GC 活力计算：

1. 标准曲线的绘制：

以标准液的浓度 ($\mu\text{mol/L}$) 为 x 轴，对应的 ΔA 标准为 y 轴，绘制标准曲线，得到标准方程 $y = kx + b$ ，将 ΔA 代入方程得到 x_1 ($\mu\text{mol/L}$)， ΔA 总代入方程得到 x_2 ($\mu\text{mol/L}$)。

2. S- α -GC 活力计算：

单位定义：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。

S- α -GC 活力 ($\mu\text{mol/d/g}$ 土样) = $x \times V_{\text{反应}} \div W \div T = 0.444x$

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