

# 土壤 $\alpha$ -葡萄糖苷酶测试盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
SMHB4-C24	土壤 $\alpha$ -葡萄糖苷酶(S- $\alpha$ -GC)试剂盒	24T	常量法
SMHB4-C48		48T	

## 一、测定意义：

土壤 $\alpha$ -葡萄糖苷酶深度参与土壤有机质的转化过程，主要是由以纤维素为底物的微生物分泌，水解纤维二糖和其他水溶性的纤维糊精产生形成葡萄糖，供微生物自身生长利用。土壤 $\alpha$ -葡萄糖苷酶的活性能够反映土壤形成的生物气候及生态学条件、土壤生物化学过程的强度及土壤肥力水平。

## 二、测定原理：

以对硝基苯- $\alpha$ -D 吡喃葡萄糖苷为底物，水解生成对硝基酚，产物显黄色，在 400nm 有特征吸收峰。

## 三、试剂盒组成：

试剂名称	试剂装量(24T)	试剂装量(48T)	保存条件
甲苯	自备	自备	常温保存
试剂一	35mL×1 瓶	60mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	-20℃保存
试剂二应用液配制：每瓶粉剂加入试剂一 3mL，充分溶解。			
试剂三	10mL×1 瓶	15mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂四	60mL×1 瓶	100mL×1 瓶	2-8℃保存
标准品（1mg/mL）	1mL×1 瓶	1mL×2 瓶	2-8℃保存

## 四、操作步骤：

### 一、样本前处理

新鲜土样自然风干或者 37℃烘箱风干，过 30-50 目筛。

### 二、操作步骤

#### 1、培养反应：

	测定管	对照管
土样（g）	0.1	0.1
甲苯（ $\mu$ L）	50	50
震荡混匀，使土样全部湿润，室温静置 15min		
试剂一（ $\mu$ L）	500	500
蒸馏水（ $\mu$ L）	-	100
试剂二应用液（ $\mu$ L）	100	-
混匀，37℃孵育 3h		
试剂三（ $\mu$ L）	100	100

混匀，10000 转/min 常温离心 10min，取上清液备用。

## 2、显色反应：（标准品稀释详见附录 I）

	测定管	对照管	标准管
上清液（ $\mu\text{L}$ ）	100	100	-
不同浓度的标准品（ $\mu\text{L}$ ）	-	-	100
试剂四（ $\mu\text{L}$ ）	900	900	900

混匀，静置 10min，波长 400nm，1cm 光径，蒸馏水调零，测定各管吸光度值。

注：每个待测样本需设定一个测定管和一个对照管；

## 五、单位定义与计算：

**单位定义：**每小时每克风干土壤中产生  $1\mu\text{g}$  对硝基酚为一个酶活力单位

**计算公式：**根据标准曲线，将吸光度值带入标曲计算出上清液中浓度  $Y$  ( $\mu\text{g/mL}$ )

$$S-\alpha\text{-GC}(\text{U/g 土样}) = (Y_{\text{测定管}} - Y_{\text{对照管}}) \times V_{\text{提取}} \div W \div T$$

**T：**反应时间，1h；

**$V_{\text{反应}}$ ：**提取液体积，0.7mL；

**W：**样本质量，0.1g。

## 六、注意事项：

- 1、比色时，溶液呈现淡黄色，在 2h 内保持稳定。
- 2、不同土壤样本的 $\alpha$ -葡萄糖苷酶差异较大，根据样本活性可以适当增加或者减少称取样本重量，也可增加反应时间。
- 3、甲苯易挥发，操作时候宜在通风橱中进行。

# 附录 I：标准曲线的制备

## 1、前处理：

将 1mg/mL 的标准品用双蒸水稀释成 0、3.125、6.25、12.5、25、50、100 $\mu$ g/mL 标准液进行标准曲线的制备。

## 2、操作表：

标准品浓度 ( $\mu$ g/mL)	0	3.125	6.25	12.5	25	50	100
标准品 ( $\mu$ L)	100	100	100	100	100	100	100
试剂四 ( $\mu$ L)	900	900	900	900	900	900	900

混匀，静置 10min，波长 400nm，1cm 光径，蒸馏水调零，测定各管吸光度值。

## 2、测定结果：

标准品浓度 ( $\mu$ g/mL)	吸光度值	绝对吸光度值
0	0.001	0.000
3.125	0.049	0.048
6.25	0.089	0.088
12.5	0.166	0.165
25	0.319	0.318
50	0.603	0.602
100	1.225	1.224

