

土壤麦芽糖酶/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：本产品试剂有所变动，请注意并严格按照该说明书操作。

货号：BC3085

规格：100T/48S

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，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	自备试剂	-
试剂二	粉剂×2 瓶	-20℃保存
试剂三	液体 15 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂四	液体 30 mL×1 瓶	2-8℃保存
标准品	液体 1 mL×1 支	2-8℃保存

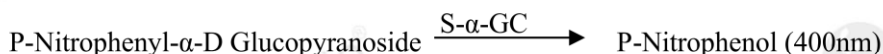
溶液的配制：

- 1、试剂一：自备甲苯，大约需要 0.6mL，常温保存；试剂盒内提供一个 30mL 棕色空瓶，仅做分装使用，请自行标注试剂名称。
- 2、试剂二：临用前取 1 瓶加入 5 mL 蒸馏水，充分溶解备用，用不完的试剂-20℃分装保存 4 周。
- 3、标准品：5 mmol/L 的对硝基苯酚溶液。

产品说明：

土壤麦芽糖酶 (Soil Maltase)，也叫 α -葡萄糖苷酶 (Soil α -Glucosidase，以下均称S- α -GC)，EC 3.2.1.20，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。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、台式离心机、恒温培养箱/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 (>98%，AR) 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℃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400nm，分光光度计蒸馏水调零。
- 2、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100μL，为减小实验误差，故配制大体积。）

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（缠封口膜，防止爆盖），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，常温静置 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 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$ 。每个测定管设一个对照管。标准管和空白管只需做 1-2 次。

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。

$$S-\alpha-GC \text{活力 (U/g 土样)} = \Delta A \div (\Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{标准}}) \times V_{\text{反应}} \div W \div T = 0.444 \times \Delta A \div \Delta A_{\text{标准}} \div W$$

T：反应时间，1h=1/24d；V反应：反应体系总体积：1.85×10⁻⁴L；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℃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 0.02g 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 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}} = 0.421 - 0.238 = 0.183$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}} = 0.473 - 0.047 = 0.426$ ，计算酶活得：
 $S-\alpha-GC \text{活力 (U/g 土样)} = 0.444 \times \Delta A \div \Delta A_{\text{标准}} \div W = 0.444 \times 0.183 \div 0.426 \div 0.02 = 9.5366 \text{ U/g 土样}$ 。
- 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 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}} = 0.374 - 0.225 = 0.149$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}} = 0.473 - 0.047 = 0.426$ ，计算酶活得：
 $S-\alpha-GC \text{活力 (U/g 土样)} = 0.444 \times \Delta A \div \Delta A_{\text{标准}} \div W = 0.444 \times 0.149 \div 0.426 \div 0.02 = 7.7648 \text{ U/g 土样}$ 。

相关发表文献：

Xiao J, Lan S, Farías ME, Qian L, Xia L, Song S, Wu L. The living forms of Microcoleus vaginatus and their contributions to the aggregate structure of biocrusts. FEMS Microbiol Ecol. 2023 Apr 7;99(5):fiad040. doi: 10.1093/femsec/fiad040.

PMID: 37028939.

相关系列产品:

- BC0160/BC0165 土壤 β -葡萄糖苷酶 (S- β -GC) 活性检测试剂盒
- BC4040/BC4045 土壤中性转化酶 (S-NI) 活性检测试剂盒
- BC0240/BC0245 土壤蔗糖酶 (S-SC) 活性检测试剂盒

