

土壤 β -1,3 葡聚糖酶 (S- β -1,3-GA) 试剂盒说明书

(货号: G0359F 分光法 24 样)

一、产品简介:

土壤 β -1,3-GA 是一种存在于土壤环境中的水解酶,主要来自土壤中的微生物(如细菌、放线菌、真菌)和植物根系。它能够特异性地催化真菌细胞壁的重要成分—— β -1,3 葡聚糖的水解,在土壤生态和农业实践中具有重要的功能。

本试剂盒采用 DNS 比色法,土壤 β -1,3-GA 水解昆布多糖的 β -1,3-葡萄糖苷键,产生还原末端。利用 3,5 二硝基水杨酸测定还原糖的量,在 540nm 有特征光吸收,在一定范围内 540nm 光吸收增加速率与土壤蔗糖酶活性成正比。

二、试剂盒组分与配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	粉剂 mg \times 1 瓶	4 $^{\circ}$ C 保存	临用前用试剂二 15mL 混匀备用
试剂二	液体 40 mL \times 1 瓶	4 $^{\circ}$ C 保存	
试剂三	液体 15mL \times 1 瓶	4 $^{\circ}$ C 保存	
标准品	粉剂 mg \times 1 支	4 $^{\circ}$ C 保存	若重新做标曲,则用到该试剂

三、所需的仪器和用品:

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿(光径 1cm)、台式离心机、水浴锅/恒温培养箱、可调式移液器、甲苯。

四、土壤 β -1,3 葡聚糖酶 (S- β -1,3-GA) 活性测定:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定,了解本批样品和实验流程,避免样本和试剂浪费!

1、样本制备:

取新鲜土样或 37 度烘箱风干样,先粗研磨,过 40 目筛网,备用。

2、上机检测:

① 培养:在 EP 管依次加入:

试剂 (μ L)	测定管	对照管
土样 (g)	0.1g 鲜土/0.03g 干土	0.1g 鲜土/0.03g 干土
甲苯	30	30
试剂一	500	
试剂二		500
混匀,于 37 $^{\circ}$ C 水浴锅或恒温培养箱中孵育 24 小时; 12000 rpm, 4 $^{\circ}$ C 离心 5min, 取上清液待测。		

② 打开可见分光光度计,调节波长为 540nm,蒸馏水调零。

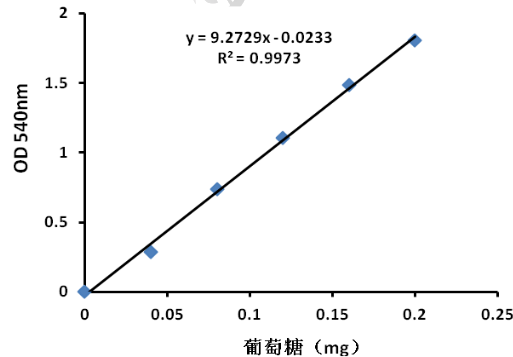
③ 显色反应:在 EP 管中依次加入(先检测 2-5 个样本,参看注意事项,依据 ΔA 判定上清液是否稀释或增加):

试剂 (μ L)	测定管	对照管
上清液	200	200
试剂三	200	200
混匀,95 $^{\circ}$ C 水浴 5min (可用封口膜缠紧,以防止水分散失),取出后流水冷却至室温。		

蒸馏水	500	500
全部液体转移到 1mL 玻璃比色皿（光径 1cm）中，540nm 处分别读取吸光值。		
$\Delta A = A$ 测定管 - A 对照管（每个测定管需设一个对照管）。		

五、结果计算：

- 1、标准曲线方程： $y = 9.2729x - 0.0233$ ；x 为标准品质量（mg），y 为 ΔA 。



- 2、酶活性定义：每天每克土样中产生 1mg 葡萄糖定义为一个酶活单位。

$$S\text{-}\beta\text{-1,3-GA 活力(mg/d/g 土样)} = [(\Delta A + 0.0233) \div 9.2729 \times (V \div V_1)] \div W \div T \times D$$

$$= 0.29 \times (\Delta A + 0.0233) \div W \times D$$

V---反应总体积：530 μ L；

V₁---显色反应中上清液体积：200 μ L；

T---反应时间，24h=1d；

W---土壤样本实际取样量，g；

D---稀释倍数，未稀释即为 1。

附：标准曲线制作过程：

- 1 制备标准品母液（1mg/mL）：从标准品管中称量取出 2mg 至一新 EP 管中，再加 2mL 蒸馏水混匀溶解即 1mg/mL 的葡萄糖（母液需在两天内用且-20 $^{\circ}$ C 保存）。
- 2 把母液用蒸馏水稀释成六个浓度梯度的标准品：0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1 mg/mL。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
- 3 依据显色反应阶段加样体系操作，200 μ L 上清液换成标准品，以标准品的质量为横坐标，吸光值为纵坐标，即可制作标准曲线。