

# 土壤 $\beta$ -半乳糖苷酶(S- $\beta$ -GAL)试剂盒

## 分光法 24 样

### 产品简介:

土壤 $\beta$ -半乳糖苷酶 ( $\beta$ -GAL, EC 3.2.1.23)又称 $\beta$ -D-半乳糖苷半乳糖基转移酶, 参与土壤中碳水化合物的水解。本试剂盒提供一种简单, 灵敏, 快速的测定方法,  $\beta$ -GAL 分解对-硝基苯- $\beta$ -D-吡喃半乳糖苷生成对-硝基苯酚 (PNP), 后者在 405nm 有最大吸收峰, 通过测定吸光值升高速率来计算 $\beta$ -GAL 活性。

### 试剂盒组成和配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	粉剂 mg $\times$ 1 瓶	-20 $^{\circ}$ C保存	临用前加入 4.5mL 蒸馏水, 充分溶解备用, 用不完的试剂仍-20 $^{\circ}$ C保存。
试剂二	液体 20mL $\times$ 1 瓶	4 $^{\circ}$ C保存	
试剂三	液体 20mL $\times$ 1 瓶	4 $^{\circ}$ C保存	
标准品	粉剂 $\times$ 1 支	4 $^{\circ}$ C保存	若重新做标曲, 则用到该试剂。

### 所需的仪器和用品:

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿 (光径 1cm)、可调式移液器、天平、低温离心机、蒸馏水。

### 土壤 $\beta$ -半乳糖苷酶 (S- $\beta$ -GAL) 酶活检测:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定, 了解本批样品情况, 熟悉实验流程, 避免实验样本和试剂浪费!

## 1、样本制备：

取新鲜土样或干土（风干或者 37 度烘箱风干），先粗研磨，过 40 目筛网备用。

**[注]：**土壤风干，减少土壤中水分对于实验的干扰；土壤过筛，保证取样的均匀细腻。

## 2、上机检测：

① 可见分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 405nm，蒸馏水调零。

② 在 EP 管中依次加入：

试剂名称 (μL)	测定管	对照管
土样 (g)	0.1	0.1
试剂一	150	
蒸馏水		150
试剂二	300	300
混匀，37°C 振荡反应 1h。		
试剂三	350	350
混匀，12000rpm 室温离心 10min，取全部上清液转移至 1mL 玻璃比色皿（光径 1cm）中，405nm 下读取吸光值 A， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}} - A_{\text{空白}}$ （每个样本做一个自身对照）。		

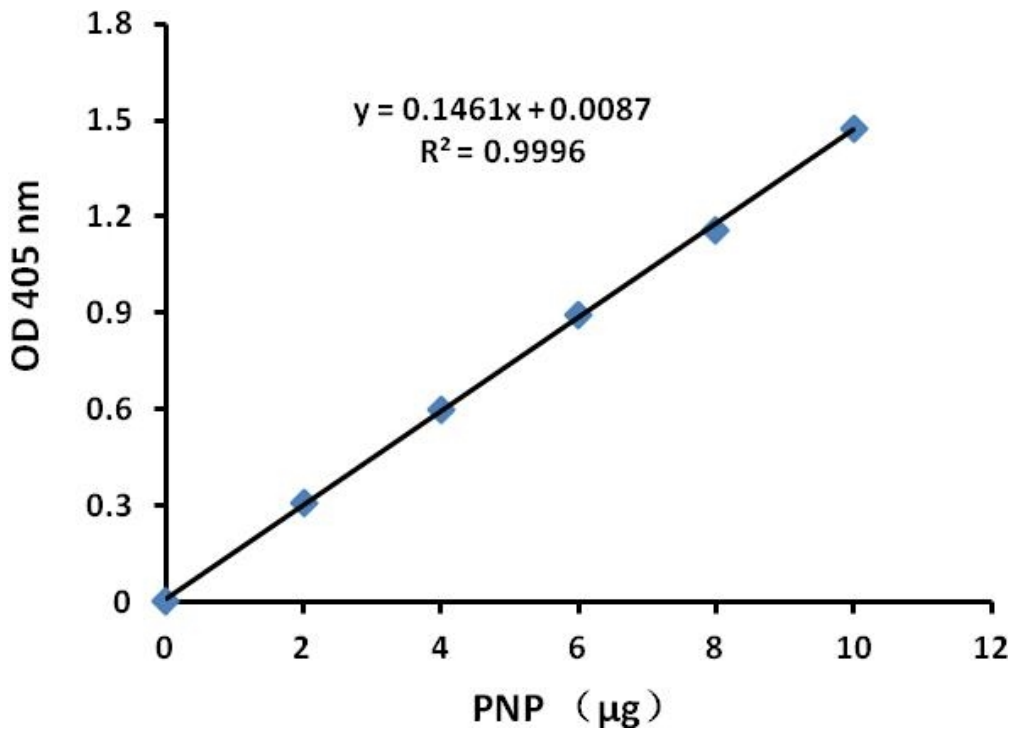
**[注]：**1. 若 $\Delta A$  在零附近徘徊，可延长 37°C的孵育时间 T（如增至 4 小时或更长），或增加土样质量 W（如增至 0.2g）。则改变后的 T 和 W 需代入计算公式重新计算。

2. 若测定管 A 值大于 1.5 或 $\Delta A$  大于 1.5，可缩短 37°C的孵育时间 T（如减至 0.5 小时或更短）。则改变后 T 需代入计算公式重新计算。或对最后一步的待检测上清液（包括测定管、对照管和空白管）同时用蒸馏水进行稀释，稀释倍数 D 代入计算公式。

**结果计算：**

### 1、标准曲线方程：

$y = 0.1461x + 0.0087$ ; x 为标准品质量 ( $\mu\text{g}$ ), y 为 $\Delta A$ 。



### 2、单位定义：

每小时每克土样中产生 1nmol 对-硝基苯酚 (PNP) 定义为一个酶活单位。

S- $\beta$ -GAL 活力(nmol/h/g 土样) =  $(\Delta A - 0.0087) \div 0.1461 \div Mr \times 10^3 \div W \div T \times D$

=  $49.2 \times (\Delta A - 0.0087) \div W \times D$

T---反应时间, 1h; W---实际称取土样质量, g;

Mr--- PNP 相对分子质量, 139.11; 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)：向标准品 EP 管里面加入 1mL 蒸馏水。

2. 把母液稀释成以下浓度梯度的标准品：0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 mg/mL。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
3. 在 EP 管依次加入：20 $\mu$ L 标准品+130 $\mu$ L 蒸馏水+300 $\mu$ L 试剂二+350 $\mu$ L 试剂三，混匀，全部上清液转移至 1mL 玻璃比色皿（光径 1cm）中，于 405nm 下读取吸光值。
4. 根据结果制作标准曲线。