

ICS 65.100.01
B 13



中华人民共和国国家标准

GB 20287—2006

GB 20287—2006

农用微生物菌剂

Microbial inoculants in agriculture

中华人民共和国
国家标准
农用微生物菌剂
GB 20287—2006

*

中国标准出版社出版发行
北京复兴门外三里河北街16号
邮政编码:100045

网址 www.spc.net.cn

电话:68523946 68517548

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷
各地新华书店经销

*

开本 880×1230 1/16 印张 1.25 字数 33 千字

2006年9月第一版 2006年9月第一次印刷

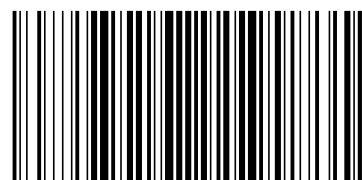
*

书号:155066·1-27935 定价 13.00 元

如有印装差错 由本社发行中心调换

版权专有 侵权必究

举报电话:(010)68533533



GB 20287—2006

2006-05-25 发布

2006-09-01 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局
中国国家标准化管理委员会 发布

目 次

| | |
|---------------------------------|----|
| 前言 | I |
| 1 范围 | 1 |
| 2 规范性引用文件 | 1 |
| 3 术语和定义 | 1 |
| 4 产品分类 | 1 |
| 5 要求 | 1 |
| 5.1 菌种 | 1 |
| 5.2 产品外观(感官) | 1 |
| 5.3 产品技术指标 | 1 |
| 6 试验方法 | 3 |
| 6.1 仪器、设备 | 3 |
| 6.2 试剂 | 3 |
| 6.3 产品参数的检测 | 3 |
| 7 检验规则 | 5 |
| 7.1 抽样 | 5 |
| 7.2 检验分类 | 6 |
| 7.3 判定规则 | 6 |
| 8 包装、标识、运输和贮存 | 6 |
| 8.1 包装 | 6 |
| 8.2 标识 | 6 |
| 8.3 运输 | 7 |
| 8.4 贮存 | 7 |
| 附录 A(规范性附录) 常用检测培养基 | 8 |
| 附录 B(资料性附录) 常用染色剂 | 11 |
| 附录 C(规范性附录) 稀释法(MPN 5 管法) | 12 |
| 附录 D(规范性附录) 酶活的测定 | 14 |

D.1.6 测定步骤

取 3 支大试管,1 支作为空白对照,其余 2 支作为平行样品管。样品管中加 1.0 mL 原样酶液,然后 3 支试管中分别加入 4.0 mL 已预热至 60℃ 的 CMC 缓冲液,在 60℃ 的水浴锅中反应 20 min 取出,每管立即加入 3.0 mL DNS 显色液,摇匀后在对照管中再加入 1.0 mL 原样酶液。将 3 支试管放入沸水浴中,显色 5 min 后立即取出,流水冷却,用分光光度计于 490 nm 处测其 OD 值。

D.1.7 纤维素酶活计算

根据标准曲线将测得的 OD 值换算成葡萄糖微克数,按式(D.1)计算酶活力:

$$U = k \times \frac{m_1 - m_0}{20} \quad \text{.....(D.1)}$$

式中:

U——样品的酶活,单位为微克每克($\mu\text{g/g}$)或微克每毫升($\mu\text{g/mL}$);

k ——样品稀释倍数;

m_1 ——样品葡萄糖量,单位为微克(μg);

m_0 ——对照葡萄糖量,单位为微克(μg);

20——酶与底物反应时间,单位为分钟(min)。

1 mL 原样酶液,1 min 产生 1 μg 葡萄糖定义为 1 个酶活力单位(U)。

D.2 蛋白酶活的测定

D.2.1 定义

1 mL 原样酶液,在一定条件下,1 min 水解酪素产生 1 μg 酪氨酸为 1 个酶活力单位(U)。

D.2.2 试验方法

应符合 QB/T 1803—1993 中 A3.2 的规定,其中对 A3.2.4.2 具体操作中修改如下:

a) 原样酶液的制备

称取样品 10.0 g(或 10.0 mL),加入装有玻璃珠的三角瓶中,再加入一定体积的磷酸缓冲液,静置 20 min,200 r/min 振荡 30 min,然后四层纱布过滤,滤液于 3 000 r/min 离心 10 min。离心后的上清液根据酶活力用缓冲液稀释至适当浓度,即为原样酶液,供测试用。

b) 测定

在具体测定中有两点改变:一是温浴反应时间由 10 min 改为 30 min;二是原静止 10 min 过滤改为 3 000 r/min 离心 5 min 取上清液。

附录 D
(规范性附录)
酶活的测定

D.1 纤维素酶活的测定**D.1.1 原理**

用羧甲基纤维素钠盐(CMC)作底物,经纤维素酶水解后生成还原糖;3,5-二硝基水杨酸(DNS)是一种氧化剂,能与还原糖作用,使硝基还原成氨基,溶液变为橙色,橙色的深度与还原糖的浓度成正比。因此,可采用比色法求得还原糖的含量,进而从还原糖的数量来求得纤维素酶活的大小。

D.1.2 试剂和溶液

- a) 磷酸钠缓冲液(0.2 mol/L, pH6.0):将 0.2 mol/L 磷酸氢二钠(Na_2HPO_4) 12.3 mL 和 0.2 mol/L 磷酸二氢钠(NaH_2PO_4) 87.7 mL 混合即得。
- b) CMC 缓冲液:准确称取 0.625 g 羧甲基纤维素钠盐,溶于 100.0 mL 磷酸钠缓冲液,加热搅拌使之溶解。
- c) DNS 显色剂:称取 10.0 g 3,5-二硝基水杨酸溶于蒸馏水中,加入 20.0 g 氢氧化钠、200.0 g 酒石酸钾钠和 500.0 mL 水,加热溶解后再加入重蒸酚 2.0 g、无水亚硫酸钠 0.5 g 待全部溶解后冷却,定容至 1 000.0 mL。
- d) 1 000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 标准葡萄糖溶液:准确称取 25.0 mg 葡萄糖,用蒸馏水定容至 25.0 mL。

D.1.3 仪器、设备

- a) 分光光度计;
- b) 电子天平;
- c) 振荡器;
- d) 培养箱。

D.1.4 标准曲线绘制

取 5 支大试管,按表 D.1 用吸管准确吸取标准葡萄糖溶液与磷酸钠缓冲液混匀,即得各种不同浓度的标准葡萄糖液。

表 D.1 不同浓度标准葡萄糖液的制备

| 试管号 | 标准葡萄糖溶液/mL | 磷酸钠缓冲液/mL | 试管中葡萄糖量/ μg |
|-----|------------|-----------|------------------------|
| 1 | 0 | 5.0 | 0 |
| 2 | 0.4 | 4.6 | 400 |
| 3 | 0.8 | 4.2 | 800 |
| 4 | 1.6 | 3.4 | 1 600 |
| 5 | 3.2 | 1.8 | 3 200 |

每管中各加 3.0 mL DNS 显色液,摇匀后置于沸水浴中准确加热 5.0 min 后,流水冷却,摇匀后于 490 nm 处测定各管的 OD 值,以葡萄糖的微克数为横坐标,OD 值为纵坐标,绘制标准曲线。

D.1.5 原样酶液的制备

称取样品 10.0 g(或 10.0 mL),加入装有玻璃珠的三角瓶中,再加入一定体积的蒸馏水稀释,静置 20 min,200 r/min 振荡 30 min,然后四层纱布过滤,滤液 3 000 r/min 离心 10 min。离心后的上清液根据酶活力稀释至适当浓度,即为原样酶液,供测试用。

前 言

本标准的 5.1、5.3、第 8 章为强制性条款,其余为推荐性条款。

本标准的附录 A、附录 C 和附录 D 为规范性附录,附录 B 为资料性附录。

本标准由中华人民共和国农业部提出并归口。

本标准起草单位:农业部微生物肥料质量监督检验测试中心、中国农业科学院土壤肥料研究所。

本标准主要起草人:沈德龙、李俊、姜昕、张玉洁、李力、冯瑞华、曹凤明、杨小红、关大伟。