

## 土壤β-葡萄糖苷酶 (Solid-β-Glucosidase, S-β-GC) 试剂盒说明书

微量法 100 管/48 样

正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

### 测定意义:

S-β-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。

### 测定原理:

S-β-GC 能够催化对-硝基苯-β-D 吡喃葡萄糖苷生成对-硝基苯酚, 后者在 400nm 有特征光吸收。

### 自备用品:

可见分光光度计/酶标仪、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、微量石英比色皿/96 孔板、甲苯 (不允许快递) 和蒸馏水。

### 试剂组成和配制:

试剂一: 甲苯 5mL×1 瓶, 4℃ 保存; (自备)

试剂二: 粉剂×1 瓶, -20℃ 保存; 临用前加入 10mL 蒸馏水, 充分溶解备用, 用不完的试剂仍-20℃ 保存;

试剂三: 液体 20mL×1 瓶, 4℃ 保存;

试剂四: 液体 15mL×1 瓶, 4℃ 保存;

### 样品处理:

新鲜土样自然风干或 37 度烘箱风干, 过 30~50 目筛。

### 测定步骤:

1、分光光度计或酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 400nm, 蒸馏水调零。

### 2、加样表

试剂名称	测定管	对照管
风干土样 (g)	0.02	0.02
试剂一 (μL)	10	10
	室温振荡混匀 15min	90℃ 振荡混匀 15min
试剂二 (μL)	130	
蒸馏水		130
试剂三 (μL)	160	160

混匀, 37℃ 振荡反应 1h 后, 90℃ 水浴 5min (盖紧, 防止水分散失), 流水冷却, 10000g 25℃ 离心 10min, 取上清液 (在 EP 管或 96 孔板中加入下列试剂)

上清液 (μL)	70	70
试剂四 (μL)	130	130

充分混匀, 室温静置 2min 后, 400nm 处测定吸光值 A, 计算  $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ 。每个测定管设一个对照管。

### S-β-GC 活力计算:

a. 用微量石英比色皿测定的计算公式如下

标准条件下测定的回归方程为  $y = 0.0032x - 0.0027$ ; x 为标准品浓度 (μmol/L), y 为吸光值。

单位的定义：每天每 g 土样中产生 1  $\mu\text{mol}$  对-硝基苯酚定义为一个酶活力单位。

S- $\beta$ -GC 活力 ( $\mu\text{mol/d/g}$  土样) =  $(\Delta A + 0.0027) \div 0.0032 \times V_{\text{反总}} \div W \div T = 112.5 \times (\Delta A + 0.0027)$

T: 反应时间, 1h=1/24d; V 反总: 反应体系总体积:  $3 \times 10^{-4}$  L; W: 样本质量, 0.02g。

b.用 96 孔板测定的计算公式如下

标准条件下测定的回归方程为  $y = 0.0016x - 0.0027$ ; x 为标准品浓度 ( $\mu\text{mol/L}$ ), y 为吸光值。

单位的定义：每天每 g 土样中产生 1  $\mu\text{mol}$  对-硝基苯酚定义为一个酶活力单位。

S- $\beta$ -GC 活力 ( $\mu\text{mol/d/g}$  土样) =  $(\Delta A + 0.0027) \div 0.0016 \times V_{\text{反总}} \div W \div T = 225 \times (\Delta A + 0.0027)$

T: 反应时间, 1h=1/24d; V 反总: 反应体系总体积:  $3 \times 10^{-4}$  L; W: 样本质量, 0.02g。