

## 土壤 $\beta$ -葡萄糖苷酶 (Solid- $\beta$ -Glucosidase, S- $\beta$ -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- $\beta$ -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- $\beta$ -GC 能够催化对-硝基苯- $\beta$ -D 吡喃葡萄糖苷生成对-硝基苯酚,后者在 400nm 有特征光吸收。

### 试剂组成和配制:

| 产品名称    | SSQ008-100T/48S | Storage |
|---------|-----------------|---------|
| 试剂一: 甲苯 | 5ml (自备)        | 4°C     |
| 试剂二: 粉剂 | 1 瓶             | -20°C   |
| 试剂三: 液体 | 20ml            | 4°C     |
| 试剂四: 液体 | 15ml            | 4°C     |
| 说明书     | 一份              |         |

试剂二: 粉剂 $\times$ 1 瓶, -20°C 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°C 保存。

### 自备仪器和用品:

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。

### 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 ( $\mu$ l) | 10   | 10   |

最终解释权所有 © 伊势久 (江苏连云港) 生物科技有限责任公司, 保留一切权利



|          | 室温振荡混匀 15min | 90°C振荡混匀 15min |
|----------|--------------|----------------|
| 试剂二 (μl) | 130          |                |
| 蒸馏水      |              | 130            |
| 试剂三 (μl) | 160          | 160            |

混匀, 37°C振荡反应 1h 后, 90°C水浴 5min (盖紧, 防止水分散失), 流水冷却, 10000g 25°C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 μmol 对-硝基苯酚定义为一个酶活力单位。

S-β-GC 活力 (μmol/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 (μmol/L), y 为吸光值。

单位的定义: 每天每 g 土样中产生 1 μmol 对-硝基苯酚定义为一个酶活力单位。

S-β-GC 活力 (μmol/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。

