

土壤 β -葡萄糖苷酶 (S- β -GC) 活性检测试剂盒说明书

微量法

注意：正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

货号：XZK-W-B935

规格：100T/48S

产品简介：

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。

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，产物略显黄色，在 400nm 有特征光吸收。

试验中所需的仪器和试剂：

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

产品内容：

试剂一：甲苯 5mL×1 瓶，4℃保存；（自备）

试剂二：粉剂×1 瓶，-20℃保存；临用前每瓶加入 13mL 蒸馏水，充分溶解备用，用不完的试剂仍-20℃保存；

试剂三：液体 30mL×1 瓶，4℃保存；

试剂四：液体 20mL×1 瓶，4℃保存；

标准品：液体×1 支，5mmol/L 的对硝基苯酚溶液。

标准样品的准备：

取 100 μ L 标准液，加入到 400 μ L 试剂三中，得到 1mmol/L 标准液，十倍稀释到 100 μ mol/L，用蒸馏水倍比稀释：50、25、12.5、6.25 μ mol/L。100、50、25、12.5、6.25 μ mol/L 做标准液。

操作步骤：

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	标准管	空白管
风干土样 (g)	0.02	0.02	-	-
试剂一 (μ L)	10	10	-	-
振荡混匀，使土样全部湿润，室温放置 15min				
试剂二 (μ L)	130	-	-	-
试剂三 (μ L)	160	160	-	-
混匀，37℃水浴 1h 后，立即沸水浴煮沸 5min（盖紧，防止水分散失），流水冷却				
试剂二 (μ L)	-	130	-	-
充分混匀，10000g 常温离心 10min，取上清液				
上清液 (μ L)	70	70	-	-
标准液 (μ L)	-	-	70	-

蒸馏水 (μL)	-	-	-	70
试剂四 (μL)	130	130	130	130

充分混匀，室温静置 2min 后，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。

标准曲线建立：根据标准管的浓度 (y) 和吸光度 $\Delta A = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$ (x)，建立标准曲线。

S-β-GC 活力的计算：

根据标准曲线，将 ΔA (x) 带入公式计算样品浓度 (μmol/L)。

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

S-β-GC 活力 (U/g 土样) = $y \times V_{\text{反总}} \div W \div T = 0.36 \times y$

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