

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烷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。

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°C保存；（自备）

试剂二：粉剂×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；

试剂三：液体20mL×1瓶，4°C保存；

试剂四：液体15mL×1瓶，4°C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（ $\mu$ L） | 10          | 10            |
|               | 室温振荡混匀15min | 90°C振荡混匀15min |
| 试剂二（ $\mu$ L） | 130         |               |
| 蒸馏水           |             | 130           |
| 试剂三（ $\mu$ L） | 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) =  $(\Delta A + 0.0027) \div 0.0032 \times V_{\text{反应}} \div W \div T = 112.5 \times (\Delta A + 0.0027)$

T: 反应时间, 1h=1/24d; V反应: 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) =  $(\Delta A + 0.0027) \div 0.0016 \times V_{\text{反应}} \div W \div T = 225 \times (\Delta A + 0.0027)$

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