

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

分光光度法 50 管/24 样

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

### 测定意义：

S- $\beta$ -GC 能够催化水解芳基或羟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、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、1mL 玻璃比色皿、甲苯（不允许快递）和蒸馏水。

### 试剂组成和配制：

试剂一：甲苯 5mL $\times$ 1 瓶，4 $^{\circ}$ C 保存；（自备）

试剂二：粉剂 $\times$ 2 瓶，-20 $^{\circ}$ C 保存；临用前每瓶加入 6mL 蒸馏水，充分溶解备用，用不完的试剂仍-20 $^{\circ}$ C 保存；

试剂三：液体 25mL $\times$ 1 瓶，4 $^{\circ}$ C 保存；

试剂四：液体 50mL $\times$ 1 瓶，4 $^{\circ}$ 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：

试剂名称	测定管	对照管
风干土样 (g)	0.05	0.05
试剂一 ( $\mu$ L)	25	25
试剂二 ( $\mu$ L)	400	
室温振荡混匀 15min 90 $^{\circ}$ C 振荡混匀 15min		
蒸馏水		400
试剂三 ( $\mu$ L)	160	160
混匀，37 $^{\circ}$ C 振荡反应 1h 后，立即 90 $^{\circ}$ C 水浴 5min（盖紧，防止水分散失），流水冷却 10000g 25 $^{\circ}$ C 离心 10min，取上清液上清液 ( $\mu$ L)		
上清液 ( $\mu$ L)	500	500
试剂四 ( $\mu$ L)	1000	1000

充分混匀，室温静置 2min 后，400nm 处蒸馏水调零，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：**

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 ( $\mu\text{mol/L}$ )，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-β-GC 活力 ( $\mu\text{mol/d/g}$  土样) =  $(\Delta A + 0.0027) \div 0.0032 \times V_{\text{反应}} \div W \div T = 138.7 \times (\Delta A + 0.0027)$

T: 反应时间, 1h=1/24d; V 反应: 反应体系总体积:  $9.25 \times 10^{-4}$  L; W: 样本质量, 0.05g