

土壤 β -葡萄糖苷酶(S- β -GC)活性检测试剂盒

Soil β -Glucosidase Assay Kit

微量法

货号: AK163

规格: 100T/48S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
AK163-A	甲苯 5mL(自备)	4℃保存
AK163-B	粉剂×2 瓶	-20℃保存; 临用前每瓶加入 7.5mL 蒸馏水充分溶解备用, 用不完的试剂可-20℃分装保存 4 周;
AK163-C	30mL×1 瓶	4℃保存;
AK163-D	20mL×1 瓶	4℃保存;
AK163-标准品	1mL×1 支 (5 mmol/L)	4℃保存;

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

简介:

意义: β -葡萄糖苷酶 (β -D-Glucosidase, S- β -GC, EC3.2.1.21), 又称 β -D-葡萄糖苷葡萄糖水解酶、龙胆二糖酶、纤维二糖酶 (cellobias, CB 或 β -G) 和苦杏仁苷酶。它属于纤维素酶类, 是纤维素分解酶系中的重要组成成分, 能够水解结合于末端非还原性的 β -D-葡萄糖键, 同时释放出 β -D-葡萄糖和相应的配基。S- β -GC 在土壤微生物的糖类代谢方面具有重要生理功能。

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、30~50 目筛、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96 孔板、研钵、冰、甲苯和蒸馏水。

样本处理:

新鲜土样自然风干或 37℃烘箱风干, 过 30~50 目筛。

测定操作表:

- 分光光度计或酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 400nm, 分光光度计用蒸馏水调零。
- 标准品制备: 临用前取 100 μ L 标准液, 加入到 400 μ L 试剂 C 中, 得到 1 mmol/L 标准液 (即 1000 μ mol/L), 再用蒸馏水稀释到待用标准液浓度 250、200、100、50、25、12.5 μ mol/L。
- 在 EP 管中依次加入下列试剂

试剂	测定管	对照管	标准管	空白管
风干土样 (g)	0.02	0.02		
AK163-A (ul)	10	10		
振荡混匀, 使土样全部湿润, 室温放置 15min				
AK163-B (ul)	130			
AK163-C (ul)	160	160		
混匀, 37℃水浴 1h 后, 沸水浴 5min (盖紧, 防止水分散失), 流水冷却				
AK163-B (ul)		130		
充分混匀, 10000g 常温离心 10min, 取上清液 (在 EP 管或 96 孔板中加入下列试剂)				

上清液(ul)	70	70		
标准液(ul)			70	
蒸馏水(ul)				70
AK163-D (ul)	130	130	130	130
充分混匀，室温静置 2min 后，400nm 处测定吸光值 A，计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$ 。				

注：每个测定管设一个对照管。

S-β-GC 活力计算：

1. 标准曲线建立：

根据标准管的浓度 (x, μmol/L) 和吸光度 $\Delta A_{\text{标准}}$ (y, $\Delta A_{\text{标准}}$)，建立标准曲线。根据标准曲线，将 $\Delta A_{\text{测定}}$ (y, $\Delta A_{\text{测定}}$) 带入公式计算样本浓度 (x, μmol/L)。

2. S-β-GC 酶活的计算：

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 酶活 (U/g 土样) = $x \times V_{\text{反应}} \div W \div T = 0.36 x$

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