

土壤 β -葡萄糖苷酶 (S- β -GC) 活性检测试剂盒说明书

微量法

货号: AC10098

规格: 100T/48S

产品组成: 使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致, 有疑问请及时联系本公司工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体 5 mL×1 瓶 (自备)	4°C保存
试剂二	粉剂×1 瓶	-20°C保存
试剂三	液体 30 mL×1 瓶	4°C保存
试剂四	液体 20 mL×1 瓶	4°C保存
标准液	液体 1 mL×1 支	4°C保存

溶液的配制:

- 1、试剂一: 自备甲苯;
- 2、试剂二: 临用前每瓶加入 13 mL 蒸馏水, 充分溶解备用, 用不完的试剂仍-20°C保存;
- 3、标准液: 5 mmol/L 的对硝基苯酚溶液;
- 4、标准液的准备: 取 100 μ L 标准液, 加入到 400 μ L 试剂三中, 得到 1 mmol/L 标准液, 再用蒸馏水十倍稀释到 100 μ mol/L。

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。

注意: 实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

需自备的仪器和用品:

可见分光光度计/酶标仪、台式离心机、恒温培养箱、水浴锅、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96 孔板、30-50 目筛、冰、研钵、甲苯 (不允许快递) 和蒸馏水。

操作步骤:

一、样品处理 (可适当调整待测样本量, 具体比例可以参考文献)

新鲜土样自然风干或 37 度烘箱风干, 过 30~50 目筛。

二、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、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。
- 3、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 (μL)	10	10	-	-
振荡混匀, 使土样全部湿润, 室温放置 15min				
试剂二 (μL)	130	-	-	-
试剂三 (μL)	160	160	-	-
混匀, 37°C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 (μL)	-	130	-	-
充分混匀, 10000g 常温离心 10min, 取上清液				
上清液 (μL)	70	70	-	-
标准液 (μL)	-	-	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)

三、S-β-GC 酶活的计算

1、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。根据标准曲线, 将 ΔA (x) 带入公式计算样本浓度 (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) = $y \times V_{\text{反应}} \div W \div T = 0.36 \times y$

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。

参考文献:

[1] Dick W A, Thavamani B, Conley S, et al. Prediction of β-glucosidase and β-glucosaminidase activities, soil organic C, and amino sugar N in reflectance spectroscopy[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2013, 56(9): 9e104.

[2] Sestelo A B F, Poza M, Villa T G. β-Glucosidase activity in a Lactobacillus plantarum wine strain[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2004, 20(6): 633.