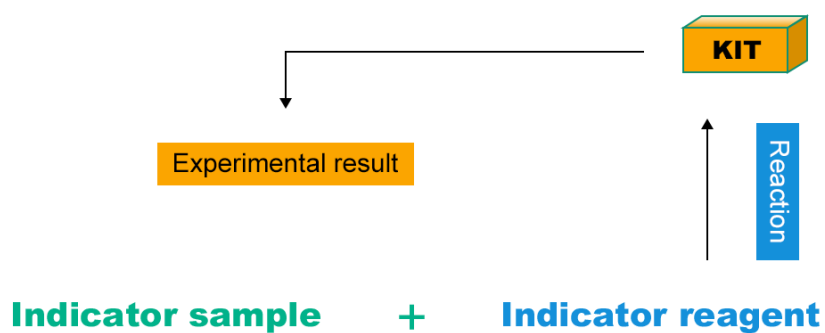


上海茁彩生物科技有限公司
ZCIBIO Technology Co., Ltd



生化检测原理示意图

Cat. NO: ZC-S0545

Size: 100T/48S

土壤 β -葡萄糖苷酶(S- β -GC)检测试剂盒说明书

微量法

*正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

一、测定意义:

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。

二、测定原理:

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, 产物略显黄色, 在 400nm 有特征光吸收。

三、需自备的仪器和用品:

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

四、试剂的组成和配置:

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
试剂一	甲苯 5mL $\times$ 1 瓶	4°C 保存	自备
试剂二	粉剂 $\times$ 1 瓶	-20°C 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°C 保存;
试剂三	液体 30mL $\times$ 1 瓶	4°C 保存	
试剂四	液体 20mL $\times$ 1 瓶	4°C 保存	
标准品	液体 $\times$ 1 支	4°C 保存	5mmol/L 的对硝基苯酚溶液

五、标准样品的准备：

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

六、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 (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。

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。

七、S-β-GC 活力的计算：

根据标准曲线，将 $\Delta A(x)$ 带入公式计算样品浓度 ($\mu\text{mol/L}$)。

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。

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

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