

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-S0828

Size: 50T/24S

## 土壤 $\beta$ -葡萄糖苷酶(S- $\beta$ -GC)检测试剂盒说明书

### 可见分光光度法

\*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- $\beta$ -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- $\beta$ -GC 能够催化对-硝基苯- $\beta$ -D 吡喃葡萄糖苷生成对-硝基苯酚,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、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、1mL 玻璃比色皿、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×1 瓶  | 4℃保存   | 自备                                   |
| 试剂二 | 粉剂×2 瓶      | -20℃保存 | 临用前每瓶加入10mL 蒸馏水,充分溶解备用,用不完的试剂仍-20℃保存 |
| 试剂三 | 液体 40mL×1 瓶 | 4℃保存   |                                      |
| 试剂四 | 液体 80mL×1 瓶 | 4℃保存   |                                      |
| 标准品 | 液体 1mL×1 支  | 4℃保存   | 5mmol/L 的对硝基苯酚溶液                     |

## 五、标准样品的准备：

取100  $\mu\text{L}$  标准液,加入到 400  $\mu\text{L}$  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)                                    | 0.05 | 0.05 | —    | —    |
| 试剂一 ( $\mu\text{L}$ )                       | 25   | 25   | —    | —    |
| 振荡混匀,使土样全部湿润,室温放置 15min                     |      |      |      |      |
| 试剂二 ( $\mu\text{L}$ )                       | 400  | —    | —    | —    |
| 试剂三 ( $\mu\text{L}$ )                       | 500  | 500  | —    | —    |
| 混匀,37℃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 ( $\mu\text{L}$ )                       | —    | 400  | —    | —    |
| 充分混匀,10000g 常温离心 10min,取上清液                 |      |      |      |      |
| 上清液 ( $\mu\text{L}$ )                       | 500  | 500  | —    |      |
| 标准液 ( $\mu\text{L}$ )                       | —    | —    | 500  |      |
| 蒸馏水 ( $\mu\text{L}$ )                       | —    | —    | —    | 500  |
| 试剂四 ( $\mu\text{L}$ )                       | 1000 | 1000 | 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。

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。

$$\text{S-}\beta\text{-GC 活力 (U/g 土样)} = y \times V_{\text{反总}} \div W \div T = 0.444 \times y$$

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