

## 土壤外切- $\beta$ -1, 4-葡聚糖酶检测试剂盒（分光光度法）

**注意：正式测定之前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定。**

### 测定意义：

C1（EC3.2.1.91）存在于细菌、真菌和动物体内，是纤维素酶系的组份之一，C1催化多聚糖链的末端非还原端释放出纤维二糖和葡萄糖。

### 测定原理：

采用 3,5-二硝基水杨酸法测定 C1 催化微晶纤维素降解产生的还原糖的含量。

### 试剂组成和配制：

提取液：液体 50mL×1 瓶，4℃ 保存；

试剂一：液体 15mL×1 瓶，4℃ 保存；

试剂二：液体 60mL×1 瓶，4℃ 保存；

### 样品测定的准备：

称取约 0.1g 新鲜土样或风干土样，加入 1mL 提取液，进行冰浴匀浆，室温振荡提取 30min，然后 10000g 4℃ 离心 10min，取上清，置冰上待测。

## 测定步骤:

- 1、分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 540nm，蒸馏水调零。
- 2、加样表（在 EP 管中依次加入下列试剂）：

试剂名称 (μL)	测定管	对照管
样本	50	50
试剂一	500	
蒸馏水		500

混匀，37℃准确水浴 2h

试剂二	1000	1000
-----	------	------

混匀，90℃水浴 10min（盖紧，防止水分散失），冷却后，测 540nm 下吸光值 A，计算  $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ 。每个测定管需设一个对照管。

## S-C1 活性计算:

标准条件下测定回归方程为  $y = 6.4078x - 0.0673$ ；x 为标准品浓度（mg/mL），y 为吸光值。

单位的定义：每 g 土样每分钟催化产生 1μg 葡萄糖定义为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{S-C1 活力}(\mu\text{g}/\text{min}/\text{g 鲜重}) &= [1000 \times (\Delta A + 0.0673) \div 6.4078 \times V_{\text{反总}}] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T \\ &= 14.305 \times (\Delta A + 0.0673) \div W \end{aligned}$$

1000: 1mg/mL=1000ug/mL;

V 反总: 反应体系总体积, 0.55mL;

V 样: 加入样本体积, 0.05 mL;

V 样总: 加入提取液体积, 1 mL;

T: 反应时间, 120 min;

W: 样本质量, g。