

土壤 β -葡萄糖苷酶（S- β -GC）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：

S- β -GC 能够催化水解芳基或羟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。

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，后者在 400nm 有特征光吸收。

试剂组成和配制：

试剂一：甲苯 5mL \times 1 瓶，4 $^{\circ}$ C 保存；（自备）

试剂二：粉剂 \times 2 瓶，-20 $^{\circ}$ C 保存；临用前每瓶加入 6mL 蒸馏水，充分溶解备用，用不完的试剂仍-20 $^{\circ}$ C 保存；

试剂三：液体 25mL \times 1 瓶，4 $^{\circ}$ C 保存；

试剂四：液体 50mL \times 1 瓶，4 $^{\circ}$ C 保存；

样品处理：

新鲜土样自然风干或 37 度烘箱风干，过 30~50 目筛。

测定步骤:

试剂名称	测定管	对照管
风干土样 (g)	0.05	0.05
试剂一 (μL)	25	25
	室温振荡混匀 15min	90°C振荡混匀 15min
试剂二 (μL)	400	
蒸馏水 (μL)		400
试剂三 (μL)	500	500

混匀, 37°C振荡反应 1h 后, 立即 90°C水浴 5min (盖紧, 防止水分散失), 流水冷却
10000g 25°C离心 10min, 取上清液

上清液 (μL)	500	500
试剂四 (μL)	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。

S-β-GC 活力计算:

标准条件下测定的回归方程为 $y = 0.0032x - 0.0027$; x 为标准品浓度 (μmol/L), y 为吸光值。

单位的定义: 每天每 g 土样中产生 1 μmol 对-硝基苯酚定义为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{S-}\beta\text{-GC 活力 } (\mu\text{mol/d/g 土样}) &= (\Delta A + 0.0027) \div 0.0032 \times V_{\text{反应}} \div W \div T \\ &= 138.7 \times (\Delta A + 0.0027) \end{aligned}$$

T: 反应时间, 1h=1/24d;

V 反应: 反应体系总体积: 9.25×10^{-4} L;

W: 样本质量, 0.05g