

土壤 β -葡萄糖苷酶 (Solid- β -Glucosidase, S- β -GC) 试剂盒说明书

分光光度法 50 管/24 样

货号:BC0160

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。

试验中所需的仪器和试剂:

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。

产品内容:

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 10mL 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 40mL $\times$ 1 瓶, 4 $^{\circ}$ C 保存;

试剂四: 液体 80mL $\times$ 1 瓶, 4 $^{\circ}$ C 保存;

标准品: 液体 $\times$ 1 支, 1.5ml EP 管含 1ml, 5mmol/L 的对硝基苯酚溶液。

标准样品的准备: 取 100 μ L 标准液, 加入到 400 μ L 试剂三中, 得到 1mmol/L 标准液, 十倍稀释到 100 μ mol/L, 倍比稀释: 50、25、12.5、6.25 μ mol/L, 稀释液用试剂三。100、50、25、12.5、6.25 μ mol/L 做标准液。

操作步骤:

试剂名称	测定管	对照管	标准管
风干土样 (g)	0.05	0.05	-
试剂一 (μ L)	25	25	-
振荡混匀, 使土样全部湿润, 室温放置 15min			
试剂二 (μ L)	400	-	-
试剂三 (μ L)	500	500	-
混匀, 37 $^{\circ}$ 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 (μ L)	-	400	-
充分混匀, 10000g 常温离心 10min, 取上清液			
上清液或标准液 (μ L)	500	500	500
试剂四 (μ L)	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（x），建立标准曲线。

S-β-GC 活力的计算：

根据标准曲线，将 ΔA （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 μmol 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，1h=1/24d；V 反总：反应体系总体积： $9.25 \times 10^{-4}\text{L}$ ；W：样本质量，0.05g。