

土壤β-葡萄糖苷酶/纤维二糖酶活性测定试剂盒说明书

荧光法 100管/96样

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：

土壤β-葡萄糖苷酶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。

测定原理：

4-羟甲基-7-香豆素(MUB)在 365 nm 波长处激发，能在 470 nm 处检测到荧光，它与某些物质结合后荧光特性消失，通过酶的水解作用 MUB 释放出来，通过检测荧光量来表征酶活性。

自备仪器和用品：

多功能酶标仪、恒温培养箱、分析天平、可调式移液器、冰、蒸馏水。

试剂组成和配制：

试剂一：液体 120mL×1 瓶，4℃保存。

试剂二：粉剂×1 瓶，4℃避光保存。用前加 11 mL 蒸馏水充分溶解（可 50℃震荡溶解）。

试剂三：液体 10mL×1 瓶，4℃保存。

粗酶液提取：

新鲜土样自然风干或 37℃烘箱风干，过 30~50 目筛。按照土壤质量（g）：试剂一（mL）为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 土壤，加入 1mL 试剂一），振荡混匀。

测定步骤：

1. 测定管：在震荡条件下取 100 μL 土壤悬液到 EP 管中，加入 100 μL 试剂二，30℃震荡避光培养 3 h，从中吸取 134 μL 到黑色不透光 96 孔板中，加入 66 μL 试剂三后用多功能酶标仪进行检测，激发光波长 365 nm，测定波长 470nm。

2. 对照管：取 100 μL 蒸馏水到 EP 管中，加入 100 μL 试剂二，30℃震荡避光培养 3 h，从中吸取 134 μL 到黑色不透光 96 孔板中，加入 66 μL 试剂三后用多功能酶标仪进行检测，激发光波长 365 nm，测定波长 470nm。ΔA=A 测定-A 对照

注意：对照管只需测定一次。

土壤β-葡萄糖苷酶活性计算公式：

标准曲线： $y = 62629x - 2266.4$ $R^2 = 0.9996$ x: MUB 标准品浓度（nmol/mL）

y: 荧光强度

$$\begin{aligned} \text{酶活 (nmol/h/g 土样)} &= (\Delta A + 2266.4) \div 62629 \times V \div T \div W \\ &= (\Delta A + 2266.4) \div 187887 \div W \end{aligned}$$

V: 提取液体积，1 mL；W: 土壤样品质量，g；T: 催化反应时间，3 h。