

土壤纤维素酶(S-CL)活性检测试剂盒

Soil Cellulase Assay Kit

微量法

货号：AK183

规格：100T/48S

产品组成及保存条件：

编号	规格	储存条件
AK183-A	甲苯 3mL×1 瓶	4℃保存（自备）
AK183-B	5mL×1 瓶	4℃保存
AK183-C	20mL×1 瓶	4℃保存
AK183-D	6mL×1 瓶	4℃保存
AK183-标准品	粉剂×1 支	4℃保存；临用前加入 1 mL 蒸馏水溶解，配制成 10mg/mL 标准品溶液备用，4℃可保存两周

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

简介：

意义：土壤纤维素酶 (Solid-cellulase, S-CL) 主要来源于土壤微生物，S-CL 催化农作物秸秆产生的葡萄糖是主要的碳源营养物质。

原理：采用 3.5-二硝基水杨酸法测定 S-CL 催化纤维素降解产生的还原糖的含量。

自备用品：

可见分光光度计/酶标仪、水浴锅、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96 孔板、研钵、冰、甲苯（不允许快递）和蒸馏水。

样本处理：

新鲜土样自然风干或 37℃烘箱风干，过 30~50 目筛。

测定步骤：

1. 分光光度计或酶标仪预热30min 以上，调节波长至 540nm，蒸馏水调零。
2. 标准品准备：将标准品用蒸馏水稀释至 1、0.8、0.6、0.4、0.2、0.1mg/mL。
3. 在 EP 管中依次加入下列试剂

试剂名称	对照管 (ul)	测定管 (ul)	标准管 (ul)	空白管 (ul)
风干土样 (g)	0.05 g	0.05 g		
AK183-A	25	25		
	煮沸 15min (盖紧)	振荡混匀，室温放置 15min		
AK183-B	45	45		
AK183-C	185	185		
蒸馏水	45	45		
振荡混匀，40℃水浴糖化 1h 后，煮沸 15min (盖紧，防止水分散失)，10000rpm 常温离心 10min, 取上清得糖化液				
糖化液	15	15		
标准品			15	
蒸馏水				15
AK183-D	35	35	35	35
混匀，沸水浴中煮沸 15min (盖紧，防止水分散失)，冷却				

蒸馏水	250	250	250	250
混匀, 冷却后, 取 200uL 至微量玻璃比色皿或 96 孔板中, 测定 540nm 下吸光值 A, 分别记为 A 对照、A 测定、A 标准、A 空白。计算 ΔA 测定=A 测定-A 对照, ΔA 标准=A 标准-A 空白。				
注: 每个测定管设定一个对照管, 空白管和标准曲线只需做 1-2 次。				

S-CL 活力计算:

1. 标准曲线的建立:

以标准品浓度 (x) 为横坐标, 吸光度 ΔA 标准 (y) 为纵坐标建立标准曲线 $y=kx+b$ 。根据标准曲线, 将 ΔA 测定带入公式中 (y) 计算样本浓度 x (mg/mL)。

2. S-CL 酶活计算:

单位的定义: 每天每 g 土样中产生 1mg 葡萄糖定义为一个酶活性单位。

S-CL 酶活 (U/g 土样) = $x \times V$ 反总 $\div W \div T = 144x$

T: 反应时间, 1h=1/24d; V 反总: 反应体系总体积, 0.3mL; W: 样本质量, 0.05g。

注意事项:

若样本测定管吸光度过小, 可延长反应时间, 即 40°C 水浴糖化时间 (可延长至 24h 或更长时间), 也可调整糖化液显色步骤的体积量(同时减少蒸馏水的体积量, 有时也可能将蒸馏水体积全部替换为糖化液体积)最后计算时加以换算即可。