

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 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。 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 $\Delta A_{\text{标准}}$ (y) 为纵坐标建立标准曲线 $y=kx+b$ 。根据标准曲线，将 $\Delta A_{\text{测定}}$ 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) $= x \times V_{\text{反总}} \div W \div T = 144x$

T: 反应时间，11h=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℃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。