

Soil-cellulase (S-CL) Activity Assay Kit

土壤纤维素酶 (S-CL) 活性测定试剂盒说明书

货号: G0308F48 | 方法: 可见分光法 | 规格: 48 样

一、产品简介:

纤维素是植物残体进入土壤的碳水化合物的重要组成部分之一。在土壤纤维素酶作用下,可以催化纤维素水解生成纤维二糖、葡萄糖等还原糖,所以,纤维素酶是碳素循环中的一个重要酶。本试剂盒采用3,5-二硝基水杨酸与终产物还原糖反应生成棕红色物质,在540nm处有特征吸收峰,进而得到土壤纤维素酶活性。

二、试剂盒组分与配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	粉体 mg×1 瓶	4°C保存	临用前加入 60mL 试剂二, 可80°C水浴, 搅拌至溶解, 待用。
试剂二	液体 120mL×1 瓶	4°C保存	
试剂三	液体 30mL×1 瓶	4°C保存	
标准品	粉剂 mg×1 支	4°C保存	若重新做标曲, 则用到该试剂。

三、所需仪器和用品:

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿 (光径 1cm)、水浴锅或恒温振荡培养箱、可调式移液器、蒸馏水。

四、土壤纤维素酶 (S-CL) 活性测定:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定, 了解本批样品情况, 熟悉实验流程, 避免实验样本和试剂浪费!

1、样本制备:

取新鲜土样或干土 (风干或者 37 度烘箱风干), 先粗研磨, 过 40 目筛网备用。

【注】: 土壤风干, 可减少土壤中水分对于实验的干扰; 土壤过筛, 保证取样的均匀细腻;

2、上机检测:

① 培养: 在 EP 管依次加入:

试剂名称 (μL)	测定管	对照管
土样 (g)	0.3-0.5	0.3-0.5
试剂一	1000	
试剂二		1000
充分混匀, 40°C培养 24 小时 (振荡培养或间隔一段时间手动振荡混匀几下), 12000rpm, 25°C离心 10min, 上清液待用		

② 分光光度计预热 30min 以上, 调节波长为 540nm, 蒸馏水调零。

③ 显色反应: 在 EP 管中依次加入:

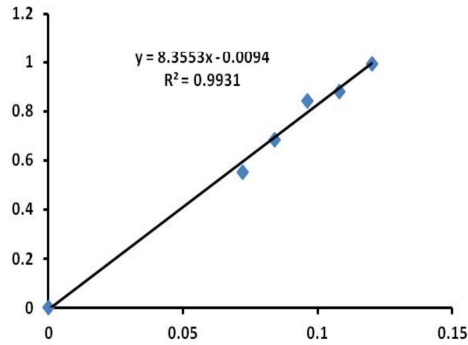
上清液	400	400
试剂三	300	300
混匀, 95°C水浴 5min, 待冷却后 (若液体有浑浊现象, 可室温 8000rpm 离心 5min 后取上清液测定), 全部转移到 1mL 玻璃比色皿 (光径 1cm) 中, 在 540nm 处读取吸光值 A, $\Delta A = A_{测定管} - A_{对照管}$		

对照管。

注意：本操作流程适用于绝大多数常规样本检测，实验条件可根据实际样本状态适度微调；
针对特殊类型样本，我司技术支持可提供专属优化建议。

五、结果计算：

- 1、标准曲线方程： $y = 8.3553x - 0.0094$ ；x 为标准品质量（mg），y 为 ΔA 。



标准曲线示意图

说明：标准曲线由标准品测定获得，具体制作方法详见随货说明书或咨询技术支持。

- 2、单位定义：每天每克土样中产生 $1\mu\text{g}$ 还原糖定义为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{土壤纤维素酶(S-CL)活力}(\mu\text{g/d/g 土样}) &= [(\Delta A + 0.0094) \div 8.3553 \times 10^3 \times (V \div V_1)] \div W \div T \\ &= 299.2 \times (\Delta A + 0.0094) \div W \end{aligned}$$

V---反应总体积，1000 μL ；

V1---显色反应中上清液体积，400 μL ；

T---反应时间，24h=1d；

W---土壤样本实际取样量，g；