

土壤纤维素酶（S-CL）活性检测试剂盒说明书

可见分光光度法

货号：BC0150

规格：50T/24S

产品组成：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

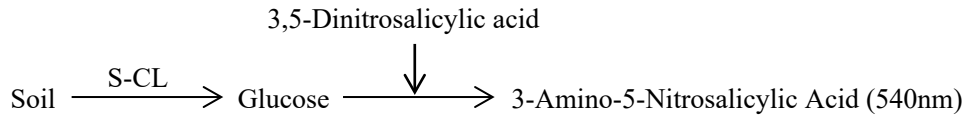
试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体 10 mL×1 瓶（自备）	2-8°C保存
试剂二	液体 15 mL×1 瓶	2-8°C保存
试剂三	液体 50 mL×1 瓶	2-8°C保存
试剂四	液体 15 mL×1 瓶	2-8°C保存
标准品	粉剂×1 支	2-8°C保存

溶液的配制：

- 1、试剂一：自备甲苯；
- 2、标准品：含 10 mg 无水葡萄糖（干燥失重<0.2%）。临用前加入 1 mL 蒸馏水溶解，配制成 10 mg/mL 葡萄糖溶液备用，2-8°C可保存两周，或者用饱和苯甲酸溶液溶解，可保存更长时间。

产品说明：

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。本产品采用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。



注意：实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计、水浴锅、可调式移液器、1mL 玻璃比色皿、30~50 目筛、研钵、甲苯（不允许快递）和蒸馏水。

操作步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

新鲜土样自然风干或 37°C烘箱风干，过 30~50 目筛。

二、测定步骤

- 1、分光光度计预热 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、标准品稀释表：

序号	稀释前浓度 (mg/mL)	标准液体积 (μL)	蒸馏水体积 (μL)	稀释后浓度 (mg/mL)
1	10	100	900	1
2	1	160	40	0.8
3	1	120	80	0.6
4	1	80	120	0.4
5	1	40	160	0.2
6	1	20	180	0.1

试验中每个标准管需 50μL 标准溶液。

4、操作表（在EP管中依次加入下列试剂）：

	对照管	测定管	标准管	空白管
风干土样 (g)	0.25	0.25	-	
试剂一 (μL)	125	125	-	
	煮沸15min (盖紧)	振荡混匀, 室温放置15min		
试剂二 (μL)	250	250	-	
试剂三 (μL)	1000	1000	-	
蒸馏水 (μL)	250	250	-	
振荡混匀, 40°C水浴糖化1h 后, 煮沸15min (盖紧, 防止水分散失), 得糖化液。				
糖化液 (μL)	50	50	-	
标准液 (μL)	-	-	50	
蒸馏水 (μL)				50
试剂四 (μL)	150	150	150	150
混匀, 沸水浴中煮沸显色15min (盖紧, 防止水分散失), 冷却				
蒸馏水 (μL)	1050	1050	1050	1050
混匀, 冷却后, 取1000μL至1ml玻璃比色皿, 测定540nm下吸光值A。分别记为A对照管、A测定管、A标准管、A空白管。计算 $\Delta A_{测定} = A_{测定管} - A_{对照管}$, $\Delta A_{标准} = A_{标准管} - A_{空白管}$ 。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。				

三、S-CL 酶活计算

1、标准曲线的建立：

以标准溶液浓度 (y) 为纵坐标, 吸光度 $\Delta A_{标准}$ (x) 为横坐标建立标准曲线 $y=kx+b$ 。根据标准曲线, 将 $\Delta A_{测定}$ 带入公式中 (x) 计算样本浓度y (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力单位。

S-CL 酶活 (U/g 土样) = $y \times V \text{ 反总} \div W \div T = 156 \times y$

T: 反应时间, 1h=1/24d; V 反总: 反应体系总体积, 1.625mL; W: 样本质量, 0.25g。

注意事项:

若样本测定管吸光度过小 (0.02), 可延长反应时间, 即 40°C 水浴糖化时间, 最后计算时加以换算即可。

参考文献:

- [1] Deng S P, Tabatabai M A. Cellulase activity of soils[J]. Soil Biology and Biochemistry, 1994, 26(10): 1347-1354.
- [2] Sinegani A A S, Sinegani M S. The effects of carbonates removal on adsorption, immobilization and activity of cellulase in a calcareous soil[J]. Geoderma, 2012, 173: 145-151.

相关系列产品:

- BC0280/BC0285 土壤碱性磷酸酶 (S-AKP/ALP) 活性检测试剂盒
- BC0110/BC0115 土壤多酚氧化酶 (S-PPO) 活性检测试剂盒
- BC0125/BC0125 土壤脲酶 (S-UE) 活性检测试剂盒
- BC0140/BC0145 土壤酸性磷酸酶 (S-ACP) 活性检测试剂盒

