

## 土壤纤维素酶(S-CL)试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
SMHB3-C24	土壤纤维素酶(S-CL)试剂盒	24T	常量法
SMHB3-C48		48T	

### 一、测定意义

纤维素是植物残体进入土壤的碳水化合物的重要组成之一。在纤维素酶作用下，它的最初水解产物是纤维二糖。在纤维二糖酶的作用下，纤维二糖分解成葡萄糖。纤维素酶是碳素循环中的一个最重要的酶。

### 二、测定原理

经土壤纤维素酶催化底物水解为还原糖，还原糖与 3,5-二硝基水杨酸在沸水浴中反应而生产橙色的产物，颜色深度与还原糖量呈正相关，比色法测定还原糖量来表示纤维素酶的活性。

### 三、试剂组成

试剂名称	试剂装量 (24T)	试剂装量 (48T)	保存条件
甲苯	自备	自备	常温
试剂一	30mL×1 瓶	60mL×1 瓶	2-8S℃ 保存
试剂二	25mL×1 瓶	35mL×1 瓶	2-8S℃ 保存
标准品	10mg×1 支	10mg×2 支	2-8S℃ 保存

10mg/mL 标准品的配制：用时一支粉剂中加入 1mL 蒸馏水充分溶解， 2-8S℃ 保存

### 四、操作步骤

#### 1、样本前处理

新鲜土样自然风干或者 37℃ 烘箱风干，过 30-50 目筛。

#### 2、操作步骤

##### ① 培养反应

	测定管	对照管	无土基质管
土样 (g)	0.1	0.1	
甲苯 (μL)	100	100	100
震荡混匀，使土样全部湿润，室温静置 15min			
试剂一 (μL)	1000		1000
蒸馏水 (μL)	-	1000	

混匀，37℃ 孵育 24h 后，混匀，10000 转/min 常温离心 10min，取上清液备用。

② 将上清液用蒸馏水稀释（通常 1-10 倍稀释）后，待测

③ 显色反应

	测定管	对照管	无土基质管	标准管
稀释后的上清液（ $\mu\text{L}$ ）	100	100		
不同浓度的标准品（ $\mu\text{L}$ ）	-	-	100	100
试剂二（ $\mu\text{L}$ ）	300	300	300	300
混匀，沸水浴 5min，流水冷却				
蒸馏水（ $\mu\text{L}$ ）	1000	1000	1000	1000

混匀，波长 540nm，1cm 光径，蒸馏水调零，测定各管吸光度值。

**注：每个待测样本需设定一个测定管和一个对照管，无土基质管只需要做一管；**

## 五、单位定义与计算

**单位定义：**每天每克风干土壤中产生 1mg 还原糖为一个酶活力单位

**计算公式：**根据标准曲线，将吸光度值带入标曲计算出上清液中浓度 Y（mg/mL）

$$\text{测定管含量 (U/g)} = (Y_{\text{测定管}} - Y_{\text{无土基质管}}) \times N \times V_{\text{反应}} \div W \div T$$

$$\text{对照管含量 (U/g)} = Y_{\text{对照管}} \times N \times V_{\text{反应}} \div W \div T$$

$$\text{S-CL(U/g 土样)} = \text{测定管含量} - \text{对照管含量}$$

**N：**上清液稀释倍数；

**T：**反应时间，1d；

**V<sub>反应</sub>：**反应体系总体积，1.1mL；

**W：**样本质量，0.1g。

## 计算举例：

取土样 0.1g 实验，上清液未稀释，测得测定管吸光度为 0.565，对照管吸光度为 0.033，无土基质管吸光度为 0.213，按计算公式计算得：

根据标准曲线，得到  $Y_{\text{测定管}} = 0.63 \text{ mg/mL}$ ， $Y_{\text{对照管}} = 0.07 \text{ mg/mL}$ ， $Y_{\text{无土基质管}} = 0.26 \text{ mg/mL}$

$$\text{S-CL(U/g 土样)} = (0.63 - 0.26) \times 1 \times 1.1 \div 0.1 \div 1 - 0.07 \times 1 \times 1.1 \div 0.1 \div 1 = 3.3 \text{ (U/g)}$$

## 六、注意事项

- 1、比色时，溶液呈现橙色，在 1h 内保持稳定。
- 2、不同土壤样本的纤维素酶差异较大，先做预实验确认样本稀释倍数。
- 3、沸水浴时，应盖紧盖子，防止漏液。

## 七、相关产品

- 1、土壤 $\beta$ -葡萄糖苷酶（S- $\beta$ -GC）检测试剂盒
- 2、土壤过氧化物酶（S-POD）检测试剂盒

## 八、公司介绍

陌凡生物科技有限公司是一家专业从事转基因检测、食品安全以及动植物疫病检测为核心业务的生物科技公司。能够为客户提供动植物疫病检测试剂、小分子抗原抗体、植物激素、植物抗体、重组蛋白等优质产品。自主研发了涵盖分子生物学、细胞生物学、免疫学、生物医学等领域的各种试剂盒。产品覆盖面广，品质可靠。

## 附录 I：标准曲线的制备

### 1、前处理：

将 10mg/mL 的标准品用蒸馏水稀释成 0、0.2、0.4、0.6、0.8、1mg/mL 标准品进行标准曲线的制备。

### 2、操作表：

标准品浓度 (mg/mL)	0	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0
不同浓度标准品 (μL)	100	100	100	100	100	100
试剂二 (μL)	300	300	300	300	300	300
混匀，沸水浴 5min，流水冷却						
蒸馏水 (μL)	1000	1000	1000	1000	1000	1000

混匀，波长 540 nm，1cm 光径，蒸馏水调零，测定各管吸光度值。

### 3、测定结果：

标准品浓度 (mg/mL)	吸光度值	绝对吸光度值
0	0.031	0.000
0.2	0.165	0.134
0.4	0.355	0.324
0.6	0.556	0.525
0.8	0.765	0.734
1.0	0.954	0.923

