

## 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-M48	土壤纤维素酶(S-CL)试剂盒	48T	微量法
SMHB3-M96		96T	

### 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 (48T)	试剂装量 (96T)	保存条件
甲苯	自备	自备	
试剂一	30mL×1 瓶	60mL×1 瓶	4℃ 保存
试剂二	25mL×1 瓶	50mL×1 瓶	4℃ 保存
标准品粉剂	10mg×2 支	10mg×2 支	4℃ 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，4℃ 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)	0.05	0.05	-
甲苯 (μL)	25	25	25
震荡混匀，使土样全部湿润，室温静置 15min			
试剂一 (μL)	500	-	500
蒸馏水 (μL)	-	500	-

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

## ② 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 (μL)	50	50	50	-
不同浓度的标准品 (μL)	-	-	-	50
试剂二 (μL)	150	150	150	150
混匀，沸水浴 5min，流水冷却				
蒸馏水 (μL)	500	500	500	500

混匀，吸取 200μL 于酶标板中，波长 540nm，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；上清液用蒸馏水稀释（一般条件下测定管 1-10 倍稀释，对照管和无土基质管不需要稀释）**

## 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</sub>：**反应体系总体积,0.5mL；

**W：**样本质量，0.05g。

## 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、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)	50	50	50	50	50	50
试剂二 (μL)	150	150	150	150	150	150
混匀，沸水浴 5min，流水冷却						
蒸馏水 (μL)	500	500	500	500	500	500

混匀，吸取 200μL 于酶标板中，波长 540nm，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	0.0206	0.0000
0.2	0.1124	0.0918
0.4	0.2202	0.1996
0.6	0.3315	0.3109
0.8	0.4565	0.4359
1.0	0.5869	0.5663

