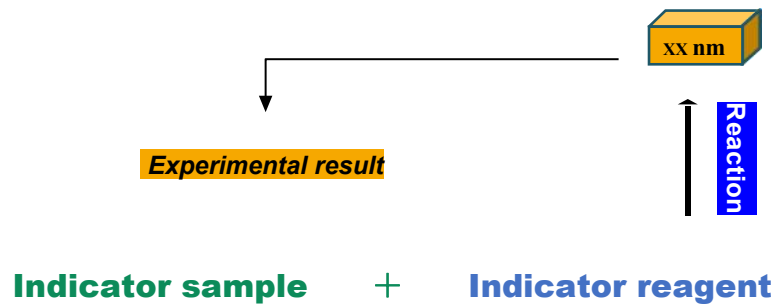


上海茁彩生物科技有限公司
Shanghai zcibio technology Co.,Ltd.



生化检测原理示意图

土壤纤维素酶（S-CL）检测试剂盒说明书

微量法

注意：正式测定之前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定。

产品内容：

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
试剂一	甲苯2.5mL×1 瓶	4℃保存	自备
试剂二	液体5mL×1 瓶	4℃保存	-
试剂三	液体20mL×1 瓶	4℃保存	-
试剂四	液体6mL×1 瓶	4℃保存	-
标准品	粉剂×1支	4℃保存	含10mg无水葡萄糖（干燥失重<0.2%），临用前加入1mL蒸馏水溶解，配制成10mg/mL葡：粉剂×1支，4℃保存，含10mg无水葡萄糖（干燥失重<0.2%），临用前加入1mL蒸馏水溶解，配制成10mg/mL葡萄糖溶液备用，4℃可保存1周，或者用饱和苯甲酸溶液溶解，可保存更长时间。

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

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。

自备仪器用品：

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、甲苯（不允许快速）和蒸馏水。

操作步骤：

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、加样表（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)	0.05	0.05	-	
试剂一 (μL)	25	25	-	
	煮沸15min (盖紧)	振荡混匀, 室温放置15min	-	
试剂二 (μL)	45	45	-	
试剂三 (μL)	185	185	-	
蒸馏水 (μL)	45	45	-	
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)	15	15	-	
标准液 (μL)	-	-	15	
蒸馏水 (μL)				15
试剂四 (μL)	35	35	35	35
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)	250	250	250	250

混匀, 冷却后, 取200 μL至微量玻璃比色皿或96孔板中, 测定540nm下吸光值A, 样品管计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ 。每个测定管设定一个对照管。

标准曲线的建立: 540nm处蒸馏水调零, 读标准管吸光值 $\Delta A = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$ 。以浓度 (y) 为纵坐标, 吸光度 ΔA (x) 为横坐标建立标准曲线。

活力计算:

根据标准曲线, 将样品 ΔA 带入公式中 (x) 计算样品浓度 y (mg/mL)。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 活力 (U/g) = $y \times V_{\text{反应}} \div W \div T = 144 \times y$

T: 反应时间, 1h=1/24d; V 反应: 反应体系总体积: 0.3mL; W: 样本质量, 0.05g。

注意事项:

若样品测定管吸光度过小 (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。