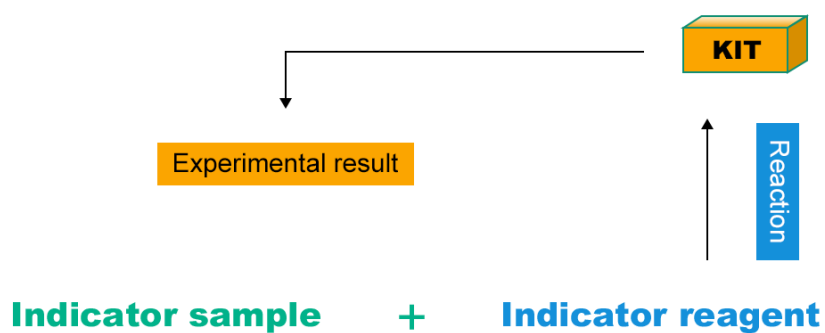


上海茁彩生物科技有限公司
ZCIBIO Technology Co., Ltd



生化检测原理示意图

Cat. NO: ZC-S0829

Size: 50T/24S

土壤纤维素酶 (S-CL) 检测试剂盒说明书

可见分光光度法

*正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

一、测定意义:

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。

二、测定原理:

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。

三、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、甲苯 (不允许快递) 和蒸馏水。

四、试剂的组成和配置:

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
试剂一	甲苯 10mL×1 瓶	4℃保存	自备
试剂二	液体 15mL×1 瓶	4℃保存	
试剂三	液体 50mL×1 瓶	4℃保存	
试剂四	液体 15mL×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。			

五、操作步骤：

1、分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 540nm，蒸馏水调零。

2、加样表和测定步骤：

	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℃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，540nm 处蒸馏水调零，测定吸光值 A，样品管计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$				

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。

六、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。

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

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。

七、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℃水浴糖化时间，最后计算时加以换算即可。