

土壤纤维素酶（Solid-cellulase, S-CL）活性测定试剂盒说明书

微量法 100管/48样

正式测定前务必取2-3个预期差异较大的样本做预测定

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。

测定原理：

采用蒽酮比色法测定S-CL催化纤维素降解产生的还原糖的含量。

需自备的仪器和用品：

酶标仪/可见分光光度计、水浴锅、可调式移液器、96孔板/微量石英比色皿、甲苯、硫酸（不允许快递）和蒸馏水。

试剂的组成和配制：

试剂一：甲苯10mL×1瓶，4℃保存；（自备）

试剂二：液体6mL×1瓶，4℃保存；

试剂三：液体40mL×1瓶，4℃保存；

试剂四：粉剂×1瓶，4℃保存；临用前加入5mL蒸馏水和45mL浓硫酸充分溶解待用。

样品处理：

新鲜土样自然风干或37度烘箱风干，过30~50目筛。

加样表和测定步骤：

| | 对照管 | 测定管 |
|----------------------|------|------|
| 风干土样（g） | 0.05 | 0.05 |
| 试剂一（ μL ） | 50 | 50 |
| 振荡混匀15min | | |
| 试剂二（ μL ） | | 90 |
| 试剂三（ μL ） | 370 | 370 |
| 蒸馏水（ μL ） | 180 | 90 |

37℃振荡反应3h后，90℃水浴15min（盖紧，防止水分散失），冷却后

8000g 25℃离心10min，取上清，得糖化液

| | | |
|----------|-----|-----|
| 糖化液 (μL) | 140 | 140 |
| 试剂四 (μL) | 260 | 260 |

混匀，90°C水浴10min（盖紧，防止水分散失），冷却，取200μL至微量石英比色皿或96孔板中，测620nm下吸光值A，计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ 。每个测定管设一个对照管。

S-CL活力计算：

a.用微量石英比色皿测定的计算公式如下

标准条件下测定的回归方程为 $y = 5.018x - 0.0462$ ；x为标准品浓度（mg/mL），y为吸光值。

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。

$$\text{S-CL活力 (mg/d/g)} = (\Delta A + 0.0462) \div 5.018 \times V_{\text{反应}} \div W \div T = 19.1 \times (\Delta A + 0.0462)$$

T：反应时间，3h=1/8d；V反应：反应体系总体积：0.6mL；W：样本质量，0.05g。

b.用96孔板测定的计算公式如下

标准条件下测定的回归方程为 $y = 2.5090x - 0.0462$ ；x为标准品浓度（mg/mL），y为吸光值。

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。

$$\text{S-CL活力 (mg/d/g)} = (\Delta A + 0.0462) \div 2.5090 \times V_{\text{反应}} \div W \div T = 38.3 \times (\Delta A + 0.0462)$$

T：反应时间，3h=1/8d；V反应：反应体系总体积：0.6mL；W：样本质量，0.05g。