

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℃ 水浴 10min（盖紧，防止水分散失），冷却，取 200 μL 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。

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

T: 反应时间, 3h=1/8d; V 反总: 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。

S-CL 活力 (mg/d/g) = $(\Delta A + 0.0462) \div 2.5090 \times V$ 反总 $\div W \div T = 38.3 \times (\Delta A + 0.0462)$

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