

土壤外切-β-1, 4-葡聚糖酶 (S-C1) 活性检测试剂盒说明书

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。

货号：XZK-W-SC1

规格：100T/48S

产品说明：

C1 (EC3.2.1.91) 存在于细菌、真菌和动物体内，是纤维素酶系的组份之一，C1催化多聚糖链的末端非还原端释放出纤维二糖和葡萄糖。

采用3,5-二硝基水杨酸法测定C1催化微晶纤维素降解产生的还原糖的含量。

产品内容：

试剂一：液体25mL×1 瓶，4℃保存，使用前需混匀；

试剂二：液体25mL×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、0.5、0.25、0.125、0.0625mg/mL。

自备的仪器和用品：

酶标仪/分光光度计、水浴锅、可调式移液器、1mL 玻璃比色皿和蒸馏水。

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
新鲜或者风干土样 (g)	0.050	0.050		
试剂一 (μL)		200		
蒸馏水 (μL)	200			200
标准品 (μL)			200	
混匀，37℃准确水浴 2h，8000g 4℃离心 5min，取上清				
取上述反应液 (μL)	100	100	100	100
试剂二 (μL)	200	200	200	200
混匀，沸水浴中煮沸显色15min（盖紧，防止水分散失），冷却，混匀，540nm处蒸馏水调零，测定吸光值A，样品管 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ ，标准管 $\Delta A = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$				

活力计算：

标准曲线的建立：以浓度（y）为纵坐标，标准管 ΔA （x）为横坐标建立标准曲线。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。

$$S-C1 \text{ 活力}(\text{mg/d/g}) = y \times V \text{ 反总} \div W \div T = 2.4 \times y \div W$$

T：反应时间，2h=1/12d； V 反总：反应体系总体积：0.2mL； W：样本质量，0.050g。

注意事项： 1. 若样品 ΔA 过小（0.02），可延长反应时间，最后计算时换算即可

2. 若标准品或样品 ΔA 过大（3.0），可同倍数稀释显色液。