

## 土壤纤维素酶（S-CL）检测试剂盒（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。

### 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。

### 试剂组成和配制：

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。

### 测定步骤和加样表：

|            | 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 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。

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

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。

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

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