

土壤 β -1,4-葡聚糖酶/纤维二糖水解酶 (S-C1) 活性检测试剂盒说明书

可见分光光度法

货号: BC4030

规格: 50T/24S

产品组成: 使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致, 有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	自备试剂	-
试剂二	粉剂×2 瓶	2-8℃保存
试剂三	液体 50 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂四	液体 60 mL×1 瓶	2-8℃保存
标准品	液体 1 mL×1 支	2-8℃保存

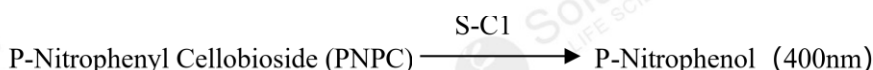
溶液的配制:

- 1、试剂一: 自备甲苯, 大约需要 3mL, 常温保存; 试剂盒内提供一个 30mL 棕色空瓶, 仅做分装使用, 请自行标注试剂名称。
- 2、试剂二: 临用前每瓶加入 10 mL 试剂三, 充分溶解备用, 用不完的试剂仍 2-8℃保存一周。
- 3、标准品: 5 mmol/L 的对硝基苯酚溶液。

产品说明:

β -1,4-葡聚糖酶/纤维二糖水解酶 (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酶作用于纤维素线状分子的末端, 水解 β -葡萄糖苷键, 每次切下1个纤维二糖分子。

S-C1能够催化对硝基苯纤维二糖苷 (PNPC) 生成对-硝基苯酚, 后者在400nm有特征光吸收。



注意: 实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。

需自备的仪器和用品:

可见分光光度计、台式离心机、水浴锅/恒温培养箱、可调式移液器、1mL玻璃比色皿、研钵、冰、30-50目筛、甲苯 (>98%, AR) 和蒸馏水。

操作步骤:

一、样本处理 (可适当调整待测样本量, 具体比例可以参考文献)

新鲜土样自然风干或 37℃烘箱风干, 过 30-50 目筛。

二、测定步骤

- 1、分光光度计预热30min以上, 波长调至400nm, 蒸馏水调零。
- 2、标准品稀释: 临用前取20 μ L 5 mmol/L 的对硝基苯酚溶液, 加入980 μ L试剂三, 充分混匀, 配制成100 μ mol/L标准液使用, 现用现配。(实验中每管需要500 μ L, 为减小实验误差, 故配制大体积。)
- 3、加样表:





试剂名称	测定管	对照管	标准管	空白管
风干土样 (g)	0.1	0.1	-	-
试剂一 (μL)	50	50	-	-
振荡混匀, 使土样润湿, 室温放置15min			-	-
试剂二 (μL)	400	-	-	-
试剂三 (μL)	500	500	-	-
混匀, 于37°C水浴锅/恒温培养箱反应1h后, 立即沸水浴5min(缠封口膜, 防止爆盖), 流水/冰浴冷却。			-	-
试剂二 (μL)	-	400	-	-
10000rpm 25°C离心10min, 取上清液			-	-
上清液 (μL)	500	500	-	-
标准品 (μL)	-	-	500	-
蒸馏水 (μL)	-	-	-	500
试剂四 (μL)	1000	1000	1000	1000

充分混匀, 室温静置 2min 后, 测定吸光值 A, 分别记为 A 测定管、A 对照管、A 标准管、A 空白管。计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$, $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$ 。每个测定管设一个对照管。标准管和空白管只需测 1-2 次。

三、S-C1 活力计算

单位的定义: 每天每g 土样中产生1μmol对-硝基苯酚定义为一个酶活力单位。

S-C1活力 (U/g 土样) = $\Delta A \div (\Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{标准}}) \times V_{\text{反应}} \div W \div T = 2.28 \times \Delta A \div \Delta A_{\text{标准}} \div W$

T: 反应时间, 1h=1/24d; V反应: 反应体系总体积: 9.5×10^{-4} L; C标准: 标准溶液浓度, 100μmol/L; W: 样本质量, g。

注意事项:

当吸光值大于1.5时, 建议将上清液用试剂三稀释后测定或者减少土样质量测定。计算时同步修改计算公式。

实验实例:

1、取两管 0.1g 土样, 即为测定管和对照管, 按照测定步骤操作, 记为 A 测定管、A 对照管。用 1mL 玻璃比色皿测得计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}} = 0.79 - 0.308 = 0.482$, $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}} = 0.599 - 0 = 0.599$, 计算酶活得:

S-C1 活力 (U/g 土样) = $2.28 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W = 2.28 \times 0.482 \div 0.599 \div 0.1 = 18.3466$ U/g 土样。

2、取两管 0.1g 林土样, 即为测定管和对照管, 按照测定步骤操作, 记为 A 测定管、A 对照管。用 1mL 玻璃比色皿测得计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}} = 0.613 - 0.346 = 0.267$, $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}} = 0.599 - 0 = 0.599$, 计算酶活得:

S-C1 活力 (U/g 土样) = $2.28 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W = 2.28 \times 0.267 \div 0.599 \div 0.1 = 10.163$ U/g 土样。

相关系列产品:

BC4010/BC4015 土壤β-木糖苷酶 (S-β-XYS) 活性检测试剂盒

BC3080/BC3085 土壤α-葡萄糖苷酶 (S-α-GC) 活性检测试剂盒

BC0240/BC0245 土壤蔗糖酶 (S-SC) 活性检测试剂盒



本产品仅供科学研究使用。请勿用于临床、诊断、食品、化妆品检测等用途。

For research use only. Do not use for clinical, diagnostic, food, cosmetic testing and other purposes.