

土壤纤维素酶活性测定试剂盒说明书

荧光法 100 管/96 样

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：

4-羟甲基-7-香豆素(MUB)在 365 nm 波长处激发，能在 470 nm 处检测到荧光，它与某些物质结合后荧光特性消失，通过酶的水解作用MUB释放出来，通过检测荧光量来表征酶活性。

自备仪器和用品：

多功能酶标仪、恒温培养箱、分析天平、可调式移液器、冰、蒸馏水。

试剂组成和配制：

试剂一：液体 120mL×1 瓶，4℃保存。

试剂二：粉剂×1 瓶，4℃避光保存。用前加 11 mL 蒸馏水充分溶解（可 50℃震荡溶解）。

试剂三：液体 10mL×1 瓶，4℃保存。

粗酶液提取：

新鲜土样自然风干或 37℃烘箱风干，过 30~50 目筛。按照土壤质量（g）：试剂一（mL）为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 土壤，加入 1mL 试剂一），振荡混匀。

测定步骤：

1. 测定管：在震荡条件下取 100 μL 土壤悬液到 EP 管中，加入 100 μL 试剂二，30℃震荡避光培养 3 h，从中吸取 134 μL 到黑色不透光 96 孔板中，加入 66 μL 试剂三后用多功能酶标仪进行检测，激发光波长 365 nm，测定波长 470nm。

2. 对照管：取 100 μL 蒸馏水到 EP 管中，加入 100 μL 试剂二，30℃震荡避光培养 3 h，从中吸取 134 μL 到黑色不透光 96 孔板中，加入 66 μL 试剂三后用多功能酶标仪进行检测，激发光波长 365 nm，测定波长 470nm。ΔA=A 测定-A 对照

注意：对照管只需测定一次。

土壤纤维素酶活性计算公式：

标准曲线： $y = 62629x - 2266.4$ $R^2 = 0.9996$ x: MUB 标准品浓度 (nmol/mL)

y: 荧光强度

$$\begin{aligned} \text{酶活 (nmol/h/g 土样)} &= (\Delta A + 2266.4) \div 62629 \times V \div T \div W \\ &= (\Delta A + 2266.4) \div 187887 \div W \end{aligned}$$

V: 提取液体积, 1 mL; W: 土壤样品质量, g; T: 催化反应时间, 3 h。