

土壤纤维二糖水解酶测试盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
SMHC5-C24	土壤纤维二糖水解酶(S-C1)试剂盒	24T	常量法
SMHC5-C48		48T	

一、测定意义：

纤维二糖水解酶存在于细菌、真菌和动物体内，是纤维素酶系的组份之一，是生物降解纤维素的关键酶之一，它属于外切酶，作用于结晶纤维素的链末端依次切开相隔的 β -1,4-糖苷键,释放纤维二糖。

二、测定原理：

以对硝基苯纤维二糖苷为底物，水解生成对硝基酚，产物显黄色，在 400nm 有特征吸收峰。

三、试剂盒组成：

试剂编号	试剂名称	试剂装量（24T）	试剂装量（48T）	保存条件
R0	甲苯	自备	自备	4℃ 保存
R1	试剂一	35mL×1 瓶	60mL×1 瓶	4℃ 保存
R2	试剂二	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	-20℃ 保存
	试剂二应用液配制：每瓶粉剂加入试剂一 3mL，充分溶解。			
R3	试剂三	10mL×1 瓶	15mL×1 瓶	4℃ 保存
R4	试剂四	60mL×1 瓶	100mL×1 瓶	4℃ 保存
R5	标准品 (1mg/mL)	1mL×1 瓶	1mL×2 瓶	4℃ 保存

四、操作步骤：

一、样本前处理

新鲜土样自然风干或者 37℃烘箱风干，过 30-50 目筛。

二、操作步骤

1、培养反应：

	测定管	对照管
土样（g）	0.1	0.1
甲苯（ μ L）	50	50
震荡混匀，使土样全部湿润，室温静置 15min		
试剂一（ μ L）	500	500
蒸馏水（ μ L）	-	100
试剂二应用液（ μ L）	100	-
混匀，37℃孵育 3h		
试剂三（ μ L）	100	100

混匀，10000 转/min 常温离心 10min，取上清液备用。

2、显色反应：（标准品稀释详见附录 I）

	测定管	对照管	标准管
上清液（μL）	100	100	-
不同浓度的标准品（μL）	-	-	100
试剂四（μL）	900	900	900

混匀，静置 10min，波长 400nm，1cm 光径，蒸馏水调零，测定各管吸光度值。

注：每个待测样本需设定一个测定管和一个对照管；

五、单位定义与计算:

单位定义：每小时每克风干土壤中产生 1μg 对硝基酚为一个酶活力单位

计算公式：根据标准曲线，将吸光度值带入标曲计算出上清液中浓度 Y（μg/mL）

$$S-CI(U/g \text{ 土样}) = (Y_{\text{测定管}} - Y_{\text{对照管}}) \times V_{\text{提取}} \div W \div T$$

T：反应时间，1h；

V_{提取}：提取液体积，0.7mL；

W：样本质量，0.1g。

六、注意事项:

- 1、比色时，溶液呈现淡黄色，在 2h 内保持稳定。
- 2、不同土壤样本的纤维二糖水解酶差异较大，根据样本活性可以适当增加或者减少称取样本重量，也可增加反应时间。
- 3、甲苯易挥发，操作时候宜在通风橱中进行。

七、公司介绍

陌凡生物科技有限公司是一家专业从事转基因检测、食品安全以及动植物疫病检测为核心业务的生物科技公司。能够为客户提供动植物疫病检测试剂、小分子抗原抗体、植物激素、植物抗体、重组蛋白等优质产品。自主研发了涵盖分子生物学、细胞生物学、免疫学、生物医学等领域的各种试剂盒。产品覆盖面广，品质可靠。

附录 I：标准曲线的制备

1、前处理：

将 1mg/mL 的标准品用双蒸水稀释成 0、3.125、6.25、12.5、25、50、100μg/mL 标准液进行标准曲线的制备。

2、操作表：

标准品浓度（μg/mL）	0	3.125	6.25	12.5	25	50	100
标准品（μL）	100	100	100	100	100	100	100
试剂三（μL）	900	900	900	900	900	900	900

混匀，静置 10min，波长 400nm，1cm 光径，蒸馏水调零，测定各管吸光度值。

2、测定结果：

标准品浓度 （μg/mL）	吸光度值	绝对吸光度值
0	0.002	0.000
3.125	0.051	0.049
6.25	0.094	0.092
12.5	0.174	0.172
25	0.318	0.316
50	0.608	0.606
100	1.238	1.236

