土壤外切-β-1，4-葡聚糖酶/纤维二糖苷酶（S-C1）活性测定

试剂盒说明书

微量法 100 管/48 样

注　　意：正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

测定意义：

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。

测定原理：

采用3,5－二硝基水杨酸法测定S-C1催化微晶纤维素降解产生的还原糖的含量。

需自备的仪器和用品：

酶标仪/可见分光光度计、水浴锅、离心机、可调式移液器、96 孔板/微量石英比色皿、研钵、冰和蒸馏水。

试剂的组成和配制：

提取液：液体 100mL×1 瓶，4℃保存；

试剂一：液体 6mL×1 瓶，4℃保存；

试剂二：液体 25mL×1 瓶，4℃保存；

样品测定的准备：

称取约 0.1g 新鲜土样或风干土样，加入 1mL 提取液，进行冰浴匀浆，室温振荡提取 30min，然后 10000g 4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

Lifemall.asia
To be with you

测定步骤：

1、 分光光度计或酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 540nm，蒸馏水调零。

2、加样表（在 EP 管中依次加入下列试剂）：

试剂名称（μL）	测定管	对照管
样本	10	10
试剂一	100	
蒸馏水		100
混匀，37℃准确水浴 2h		
试剂二	200	200

混匀， 90℃水浴 10min（盖紧，防止水分散失），冷却后，取 200μL 至微量石英比色皿或 96 孔板中，测 540nm 下吸光值 A，计算 ΔA=A 测定管-A 对照管。每个测定管需设一个对照管。

S-C1 活性计算：

a. 用微量石英比色皿测定的计算公式如下

标准条件下测定回归方程为 y = 6.4078x - 0.0673；x 为标准品浓度（mg/mL），y 为吸光值。

单位的定义：每 g 土样每分钟催化产生 1μg 葡萄糖定义为一个酶活力单位。

S-C1 活力(μg /min /g 鲜重)=[1000×(ΔA+0.0673) ÷6.4078×V 反总]÷(W× V 样÷V 样总) ÷T

=14.305×(ΔA+0.0673) ÷W

1000：1mg/mL=1000ug/mL；V 反总：反应体系总体积，0.11mL； V 样：加入样本体积，0.01 mL；V 样总：加入提取液体积，1 mL；T：反应时间，120 min； W：样本质量，g；

b.用 96 孔板测定的计算公式如下

标准条件下测定回归方程为 y = 3.2039x - 0.0673；x 为标准品浓度（mg/mL），y 为吸光值。

单位的定义：每 g 组织每分钟催化产生 1μg 葡萄糖定义为一个酶活力单位。

S-C1 活力(μg /min /g 鲜重)=[1000×(ΔA+0.0673) ÷3.2039×V 反总]÷(W× V 样÷V 样总) ÷T

=28.61×(ΔA+0.0673) ÷W

1000：1mg/mL=1000ug/mL；V 反总：反应体系总体积，0.11mL； V 样：加入样本体积，0.01 mL；V 样总：加入提取液体积，1 mL；T：反应时间，120 min； W：样本质量，g。

Lifemall asia To be with you