

## Soil exo- $\beta$ -1,4-glucanase/cellobiohydrolase (CBH) Activity Assay Kit 土壤外切- $\beta$ -1,4-葡聚糖酶 (S-CBH) 活性测定试剂盒说明书

货号: G0323F | 方法: 可见分光法 | 规格: 24 样

### 一、产品简介:

土壤外切- $\beta$ -1,4-葡聚糖酶又称土壤纤维二糖水解酶 (CBH, EC 3.2.1.91) 是土壤纤维素酶系的组份之一, 该酶作用于 $\beta$ -1,4-糖苷键, 每次切下一个纤维二糖 (还原糖) 分子, 本试剂盒采用该酶催化对硝基苯基- $\beta$ -D-纤维二糖苷生成黄色物质对-硝基苯酚 (PNP), 该物质在 405nm 有特征光吸收, 进而得到土壤外切- $\beta$ -1,4-葡聚糖酶 (S-CBH) 活性大小。

### 二、试剂盒组分与配制:

| 试剂名称 | 规格          | 保存要求   | 备注                        |
|------|-------------|--------|---------------------------|
| 试剂一  | 液体 45mL×1 瓶 | 4°C 保存 |                           |
| 试剂二  | 粉体 mg×1 支   | 4°C 保存 | 临用前加入 1.5mL 蒸馏水溶解, 4 度保存。 |
| 试剂三  | 液体 10mL×1 瓶 | 4°C 保存 |                           |
| 标准品  | 粉剂 mg×1 支   | 4°C 保存 | 若重新做标曲, 则用到该试剂。           |

### 三、所需仪器和用品:

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿 (光径 1cm)、水浴锅或恒温振荡培养箱、可调式移液器、蒸馏水。

### 四、土壤外切- $\beta$ -1,4-葡聚糖酶活性测定:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定, 了解本批样品情况, 熟悉实验流程, 避免实验样本和试剂浪费!

#### 1、样本制备:

取新鲜土样或干土 (风干或者 37 度烘箱风干), 先粗研磨, 过 40 目筛网备用。

**【注】:** 土壤风干, 减少土壤中水分对于实验的干扰; 土壤过筛, 保证取样的均匀细腻;

#### 2、上机检测:

① 可见分光光度计预热 30min 以上, 调节波长至 405nm, 蒸馏水调零。

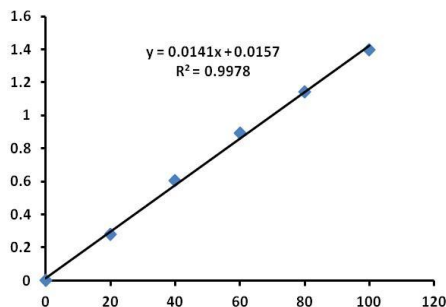
② 在 EP 管中依次加入:

| 试剂名称 ( $\mu$ L)  | 测定管 | 对照管 | 空白管 (仅做一次) |
|--|-----|-----|------------|
| 土样 (g)   | 0.1 | 0.1 |            |
| 试剂一  | 750 | 800 | 750        |
| 试剂二  | 50  |     | 50         |
| 充分混匀, 37°C 培养 2 小时 (振荡培养或间隔 20min 手动振荡混匀几下)  |     |     |            |
| 试剂三  | 200 | 200 | 200        |
| 混匀, 8000rpm 离心 5min (若上清液不澄清可加大离心力), 取 700 $\mu$ L 上清液至 1mL 玻璃比色皿 (光径 1cm) 中, 405nm 下读取吸光值 A, $\Delta A = A$ 测定 - A 对照 - A 空白 (每个样本做一个自身对照)。 |     |     |            |

注意: 本操作流程适用于绝大多数常规样本检测, 实验条件可根据实际样本状态适度微调; 针对特殊类型样本, 我司技术支持可提供专属优化建议。

## 五、结果计算：

1、标准曲线方程： $y = 0.0141x + 0.0157$ ；x 为标准品摩尔质量（nmol），y 为 $\Delta A$ 。



标准曲线示意图

说明：标准曲线由标准品测定获得，具体制作方法详见随货说明书或咨询技术支持。

2、单位定义：每小时每克土样中产生 1nmol 对-硝基苯酚（PNP）定义为一个酶活单位。

$$\begin{aligned} \text{S-CBH 活力}(\text{nmol/h/g 土样}) &= (\Delta A - 0.0157) \div 0.0141 \div W \div T \times D \\ &= 35.5 \times (\Delta A - 0.0157) \div W \times D \end{aligned}$$

T---反应时间，2h；

W---土壤样本实际取样量，g；

PNP 相对分子质量---139.11；

D---稀释倍数，未稀释即为 1。