Soil exo-β-1, 4-glucanase/cellobiohydrolase (CBH) Activity Assay Kit

土壤外切-β-1,4-葡聚糖酶（S-CBH）活性测定试剂盒说明书

货号：BN72562 | 方法：可见分光法 | 规格：24 样

一、产品简介：

土壤外切-β-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β-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-β-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-β-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℃保存	
试剂二	粉体 mg×1 支	4℃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℃保存	
标准品	粉剂 mg×1 支	4℃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-β-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。

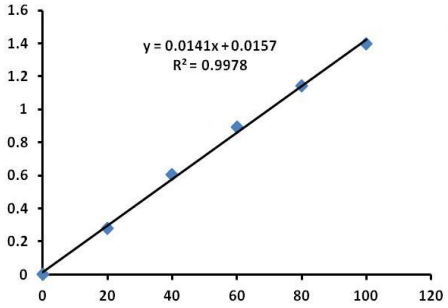
② 在 EP 管中依次加入：

试剂名称（μL）	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℃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 700μL 上清液至 1mL 玻璃比色皿（光径 1cm）中，405nm 下读取吸光值 A，△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△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。

S-CBH 活力(nmol/h/g 土样)=(ΔA-0.0157)÷0.0141÷W÷T×D

=35.5×(ΔA-0.0157)÷W×D

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。