

土壤 β -木糖苷酶 (Solid- β -xylosidase, S- β -XYS) 测定试剂盒说明书

分光光度法 50 管/24 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：

β -木糖苷酶(EC3.2.1.37)存在于植物、细菌和真菌等生物体，是催化木聚糖类半纤维素降解的关键酶，产物木糖可作为碳源应用于微生物发酵。另外， β -木糖苷酶还可以作为生物漂白剂应用于造纸工业，比传统的漂白法环保，具有广泛的应用价值。

测定原理：

S- β -XYS 催化对硝基苯酚- β -D-木糖苷产生对硝基苯酚，对硝基苯酚在 405nm 处有特征吸收峰，测定 405nm 光吸收增加速率，可计算 S- β -XYS 活性。

自备实验用品及仪器：

天平、低温离心机、可见分光光度计、1 mL 玻璃比色皿和蒸馏水。

试剂组成和配制：

提取液：液体 50mL×1 瓶，4℃保存。

试剂一：液体 2mL×1 瓶，4℃避光保存。

试剂二：液体 20mL×1 瓶，4℃保存。

试剂三：液体 20mL×1 瓶，4℃保存。

粗酶液提取：

约 0.1g 鲜土或风干土样，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，取上清待测。

测定操作表：

1、 分光光度计预热 30min，调节波长至 405nm。

2、 操作表

	对照管	测定管
样本 (μL)	200	200
试剂一 (μL)		50
试剂二 (μL)	400	350
混匀，45℃水浴 20min		
试剂三 (μL)	400	400
混匀，静置 5min，405nm 处测定吸光值 A，计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ 。每个测定管设一个对照管。		

β -木糖苷酶活性：

标准曲线: $y=13.226x+0.0011$, $R^2=0.9998$; x 为标准品浓度 ($\mu\text{mol/mL}$), y 为吸光值 ΔA 。

酶活定义: 每克土样每天催化产生 $1\mu\text{mol}$ 对硝基苯酚的酶量为一个酶活单位。

$$\beta\text{-木糖苷酶活性 } (\mu\text{mol/d/g 土样}) = (\Delta A - 0.0011) \div 13.226 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T$$
$$= 16.33 \times (\Delta A - 0.0011) \div W$$

$V_{\text{样总}}$: 加入提取液体积, 1mL; $V_{\text{反总}}$: 反应总体积, 0.6mL; $V_{\text{样}}$: 反应中样品体积, 0.2mL; W : 样品质量, g; T : 反应时间, 20min=1/72d;

ΔA 控制在 0.01-2 范围内, 若 ΔA 大于 2, 可适当减小样本量。

标准曲线线性范围为: $0.01\mu\text{mol/mL}$ - $0.5\mu\text{mol/mL}$ 。