

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

微量法100T/48S

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。

自备仪器和样品：

天平、低温离心机、可见分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96孔板和蒸馏水。

试剂组成和配制：

提取液：液体100mL×1瓶，4°C保存。

试剂一：液体1mL×1瓶，4°C避光保存。

试剂二：液体10mL×1瓶，4°C保存。

试剂三：液体10mL×1瓶，4°C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°C，离心10min，取上清待测。

测定操作表：

1、分光光度计/酶标仪预热30min，调节波长至405nm。

2、操作表

	寿剌篋	浑宠篋
样本 + π L -	40	40
诛削丌 + π L -		10
诛削互 + π L -	80	70
滢匆 = 45IX水泚20min		
诛削丐 + π L -	80	80

混匀= 震荡5min= 405nm处测定吸光值A，让箱⊖ A=A测定管-A对照管每个测定管设一个对照管。

土壤β-木糖苷酶（Solid-β- xylosidase, S-β-XYS）测定试剂盒说明书活性计算公式：

a. 用微量石英比色皿测定的计算公式如下

标准曲线：y=13.226x+0.0011，R²=0.9998；x为标准品浓度（μmol/mL），y为吸光值ΔA。

酶活定义：每克土样每天催化产生1μmol对硝基苯酚的酶量为一个酶活单位。

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

V样总：加入提取液体积，1mL； V反总：反应总体积，0.12mL； V样：反应中样品体积，0.04mL； W：样品质量，g； T：反应时间，20min=1/72d；

b. 用96孔板测定的计算公式如下

标准曲线：y=6.613x+0.0011，R²=0.9998；x为标准品浓度（μmol/mL），y为吸光值ΔA

酶活定义：每克土样每天催化产生1μmol对硝基苯酚的酶量为一个酶活单位。

$$\begin{aligned}\beta\text{-木糖苷酶活性}(\mu\text{mol/d/g 土样}) &= (\Delta A - 0.0011) \div 6.613 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} + V_{\text{样总}} \times W) \div T \\ &= 32.66 \times (\Delta A - 0.0011) \div W\end{aligned}$$

V样总：加入提取液体积，1mL； V反总：反应总体积，0.12mL； V样：反应中样品体积，0.04mL； W：样品质量，g； T：反应时间，20min=1/72d；

ΔA控制在0.01-1范围内，若ΔA大于1，可适当减小样本量。

标准曲线线性范围为：0.01μmol/mL-0.5μmol/mL。