

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。

自备实验用品及仪器：

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

	对照管	测定管
样本（μL）	40	40
试剂一（μL）		10
试剂二（μL）	80	70
混匀，45°C水浴20min		
试剂三（μL）	80	80
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:  $y=13.226x+0.0011$ ,  $R^2=0.9998$ ; x为标准品浓度 ( $\mu\text{mol/mL}$ ), y为吸光值 $\Delta A$ 。

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。

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

$V_{\text{样总}}$ : 加入提取液体积, 1mL;  $V_{\text{反总}}$ : 反应总体积, 0.12mL;  $V_{\text{样}}$ : 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:  $y=6.613x+0.0011$ ,  $R^2=0.9998$ ; x为标准品浓度 ( $\mu\text{mol/mL}$ ), y为吸光值 $\Delta A$

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。

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

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

$\Delta A$ 控制在0.01-1范围内, 若 $\Delta A$ 大于1, 可适当减小样本量。

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