

# 土壤 $\beta$ -木糖苷酶 (S- $\beta$ -XYS) 活性检测试剂盒说明书

微量法

货号: AC10620

规格: 100T/48S

**产品组成: 使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致, 有疑问请及时联系本公司工作人员。**

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体 2 mL×1 瓶 (自备)	4°C保存
试剂二	液体 10 mL×1 瓶	4°C保存
试剂三	粉剂×2 瓶	-20°C保存
试剂四	液体 30 mL×1 瓶	4°C保存
标准品	液体 1 mL×1 支	4°C保存

溶液的配制:

- 1、试剂一: 甲苯自备。
- 2、试剂三: 临用前每瓶加入 5 mL 蒸馏水, 充分溶解备用, 用不完的试剂仍-20°C保存;
- 3、标准品: 5 mmol/L 的对硝基苯酚溶液。临用前用试剂二将标准品稀释 50 倍得 100  $\mu$ mol/L 的标准溶液。

## 产品说明:

$\beta$ -木糖苷酶 (EC3.2.1.37,  $\beta$ -XYS) 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,  $\beta$ -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。

S- $\beta$ -XYS催化对硝基苯酚- $\beta$ -D-木糖苷产生对硝基苯酚, 对硝基苯酚在400nm处有特征吸收峰, 测定400nm光吸收增加速率, 可计算S- $\beta$ -XYS活性。

**注意: 实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。**

## 需自备的仪器和用品:

可见分光光度计/酶标仪、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96孔板、研钵、冰、30-50目筛、甲苯 (不允许快递) 和蒸馏水。

## 操作步骤:

### 一、样本处理 (可适当调整待测样本量, 具体比例可以参考文献)

新鲜土样自然风干或37°C烘箱风干, 过30-50目筛。

### 二、测定步骤

- 1、分光光度计/酶标仪预热30min, 波长调至400nm, 蒸馏水调零。
- 2、加样表:

试剂名称	测定管	对照管	标准管	空白管
风干土样 (g)	0.02	0.02	-	-
试剂一 (μL)	5	5	-	-
振荡混匀, 使土样全部潮湿, 室温放置15min			-	-
试剂二 (μL)	100	100	-	-
试剂三 (μL)	80	-	-	-
混匀, 50°C水浴1h 后, 立即沸水浴5min (盖紧, 防止水分散失), 流水/冰浴冷却。			-	-
试剂三 (μL)	-	80	-	-
10000rpm 25°C离心10min, 取上清液			-	-
上清液 (μL)	100	100	-	-
标准品 (μL)	-	-	100	-
蒸馏水 (μL)	-	-	-	100
试剂四 (μL)	200	200	200	200

充分混匀, 室温静置 2min, 10000g 常温离心 5min, 取上清于比色皿/96 孔板中测定吸光值 A, 分别记为 A 测定管、A 对照管、A 标准管、A 空白管。计算  $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ ,  $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$ 。每个测定管设一个对照管。

### 三、S-β-XYS活力计算

单位的定义: 每天每g土样中产生1μmol对-硝基苯酚定义为一个酶活力单位。

$$S\text{-}\beta\text{-XYS活力 (U/g 土样)} = \Delta A \div (\Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{标准}}) \times V_{\text{反总}} \div W \div T = 0.444 \times \Delta A \div \Delta A_{\text{标准}} \div W$$

T: 反应时间, 1h=1/24d; V反总: 反应体系总体积:  $1.85 \times 10^{-4}L$ ; C标准: 标准溶液浓度, 100μmol/L; W: 样本质量, g。

#### 实验实例:

- 1、取两管 0.02g 土样, 即为测定管和对照管, 按照测定步骤操作, 记为 A 测定管、A 对照管。用 96 孔板计算  $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}} = 0.297 - 0.128 = 0.169$ ,  $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}} = 0.395 - 0.047 = 0.348$ , 计算酶活得: S-β-XYS 活力 (U/g 土样) =  $0.444 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W = 0.444 \times 0.169 \div 0.348 \div 0.02 = 10.781$  U/g 土样。
- 2、取两管 0.02g 林土样, 即为测定管和对照管, 按照测定步骤操作, 记为 A 测定管、A 对照管。用 96 孔板计算  $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}} = 0.251 - 0.089 = 0.162$ ,  $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}} = 0.395 - 0.047 = 0.348$ , 计算酶活得: S-β-XYS 活力 (U/g 土样) =  $0.444 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W = 0.444 \times 0.162 \div 0.348 \div 0.02 = 10.344$  U/g 土样。