

## 土壤 $\beta$ -木糖苷酶 (Solid- $\beta$ - xylosidase, S- $\beta$ -XYS) 测定试剂盒说明书

### 微量法 100T/48S

正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

#### 测定意义:

$\beta$ -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,  $\beta$ -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。

#### 测定原理:

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 405nm 处有特征吸收峰, 测定 405nm 光吸收增加速率, 可计算 S- $\beta$ -XYS 活性。

#### 组成:

产品名称	SSQ103-100T/48S	Storage
提取液: 液体	100ml	4°C
试剂一: 液体	1ml	4°C避光
试剂二: 液体	10ml	4°C
试剂三: 液体	10ml	4°C
说明书	一份	

#### 自备仪器和用品:

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。

#### 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 ( $\mu$ l)	40	40

最终解释权所有 © 伊势久 (江苏连云港) 生物科技有限责任公司, 保留一切权利



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 (μmol/ml), y 为吸光值 $\Delta A$ 。

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。

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

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:  $y = 6.613x + 0.0011$ ,  $R^2 = 0.9998$ ; x 为标准品浓度 (μmol/ml), y 为吸光值 $\Delta A$

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。

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

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;

$\Delta A$  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: 0.01μmol/ml-0.5μmol/ml。

