

# 土壤β-木糖苷酶(S-β-XYS)活性检测试剂盒说明书

微量法

注意：正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

货号：XZK-W-SBXYS

规格：100T/48S

## 产品简介：

β-木糖苷酶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。

β-木糖苷酶催化对硝基苯酚-β-D-木糖苷产生对硝基苯酚，对硝基苯酚在 400nm 处有特征吸收峰，测定 400nm 光吸收增加速率，可计算β-木糖苷酶活性。

## 试验中所需的仪器和试剂：

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、冰、甲苯（不允许快递）和蒸馏水。

## 产品内容：

试剂一：甲苯 5mL×1 瓶，4°C保存；（自备）

试剂二：粉剂×1 瓶，-20°C保存；临用前每瓶加入 13mL 甲醇，充分溶解备用，用不完的试剂仍-20°C保存；

试剂三：液体 30mL×1 瓶，4°C保存；

试剂四：液体 20mL×1 瓶，4°C保存；

标准品：液体×1 支，5mmol/L 的对硝基苯酚溶液。

## 标准样品的准备：

取 100μL 标准液，加入到 400μL 试剂三中，得到 1mmol/L 标准液，十倍稀释到 100 μmol/L，用蒸馏水倍比稀释：50、25、12.5、6.25μmol/L。100、50、25、12.5、6.25μmol/L 做标准液。

## 操作步骤：

1、分光光度计或酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 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)                                    | 10   | 10   | -   | -   |
| 振荡混匀，使土样全部湿润，室温放置 15min                     |      |      |     |     |
| 试剂二 (μL)                                    | 130  | -    | -   | -   |
| 试剂三 (μL)                                    | 160  | 160  | -   | -   |
| 混匀，37°C水浴 1h 后，立即沸水浴煮沸 5min（盖紧，防止水分散失），流水冷却 |      |      |     |     |
| 试剂二 (μL)                                    | -    | 130  | -   | -   |
| 充分混匀，10000g 常温离心 10min，取上清液                 |      |      |     |     |
| 上清液 (μL)                                    | 70   | 70   | -   | -   |

|          |     |     |     |     |
|----------|-----|-----|-----|-----|
| 标准液 (μL) | -   | -   | 70  |     |
| 蒸馏水 (μL) | -   | -   | -   | 70  |
| 试剂四 (μL) | 130 | 130 | 130 | 130 |

充分混匀，室温静置 2min 后，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。

标准曲线建立：根据标准管的浓度 (y) 和吸光度 $\Delta A = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$  (x)，建立标准曲线。

### β-木糖活力的计算：

根据标准曲线，将 $\Delta A$  (x) 带入公式计算样品浓度 (μmol/L)。

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。

β-木糖苷酶活力 (U/g 土样) =  $y \times V_{\text{反应}} \div W \div T = 0.36 \times y$

T：反应时间，1h=1/24d；V 反应：反应体系总体积： $3 \times 10^{-4}$ L；W：样本质量，0.02g。