

土壤 β -木糖苷酶 (S- β -XYS) 检测试剂盒 (分光光度法)

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。

试剂组成和配制：

提取液：液体 50mL×1 瓶，4℃ 保存。

试剂一：液体 2mL×1 瓶，4℃ 避光保存。

试剂二：液体 20mL×1 瓶，4℃ 保存。

试剂三：液体 20mL×1 瓶，4℃ 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℃，离心 10min，取上清待测。

测定步骤:

1、分光光度计预热 30min，调节波长至 405nm。

2、操作表

	对照管	测定管
样本 (μL)	200	200
试剂一 (μL)		50
试剂二 (μL)	400	350
混匀，45℃水浴 20min		
试剂三 (μL)	400	400
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:

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 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。

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

V 样总: 加入提取液体积, 1mL;

V 反总: 反应总体积, 0.6mL;

V 样: 反应中样品体积, 0.2mL;

W: 样品质量, g;

T: 反应时间, 20min=1/72d;

ΔA 控制在 0.01-2 范围内, 若 ΔA 大于 2, 可适当减小样本量。

标准曲线线性范围为: 0.01μmol/mL-0.5μmol/mL。