

土壤 β -木糖苷酶 (Solid- β -xylosidase) 测定试剂盒说明书

(货号: G0332W 微板法 48 样)

一、产品简介:

β -木糖苷酶(EC3.2.1.37)是一类重要的木聚糖降解水解酶, 存在于细菌和真菌等生物体, 主要从非还原末端把木二糖和低聚木糖催化切割为木糖单体, 产物木糖可作为碳源应用于微生物发酵。

土壤中 β -木糖苷酶催化对硝基苯酚- β -D-木糖苷产生对硝基苯酚(PNP), 该产物在 405nm 处有特征吸收峰, 通过测定 405nm 光吸收增加速率, 即可计算土壤 β -木糖苷酶活性。

二、试剂盒组成和配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	粉剂 mg $\times$ 1 支	4℃ 保存	用前甩几下使试剂落入底部, 再加 1.4mL 蒸馏水溶解备用。
试剂二	液体 6mL $\times$ 1 瓶	4℃ 保存	
试剂三	液 22mL $\times$ 1 瓶	4℃ 保存	
标准品	粉剂 $\times$ 1 支	4℃ 保存	若重新做标曲, 则用到该试剂。

三、所需的仪器和用品:

酶标仪、96 孔板、可调式移液器、天平、低温离心机、蒸馏水。

四、土壤 β -木糖苷酶活性测定:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定, 了解本批样品情况, 熟悉实验流程, 避免实验样本和试剂浪费!

1、样本的制备:

取新鲜土样风干或者 37℃ 烘箱风干, 先粗研磨, 过 40 目筛网备用。

【注】: 土壤风干, 减少土壤中水分对于实验的干扰; 土壤过筛, 保证取样的均匀细腻;

2、上机检测:

① 酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 405nm。

② 在 EP 管中依次加入:

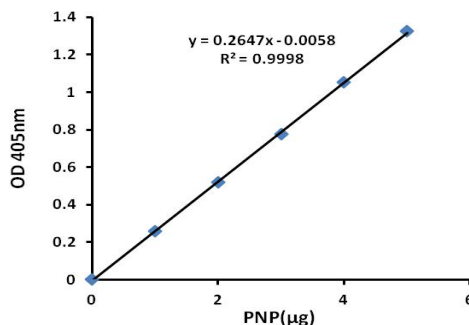
试剂名称	测定管	对照管
风干土样 (g)	0.05	0.05
试剂一 (μ L)	25	
蒸馏水		25
试剂二 (μ L)	55	55
混匀, 45℃ 振荡反应 30min		
试剂三 (μ L)	220	220
混匀, 12000rpm, 离心 10min, 取上清液 200 μ L 于 96 孔板中, 405nm 下读取吸光值 A, $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ (每个样本需做一个自身对照)。		

【注】: 1. 若 ΔA 过小, 可以增加土样量或延长保温时间 (如: 40min 或更长), 重新调整的样本量 W 和反应时间 T 需代入计算公式重新计算。

2. 若 A 测定超过 1.5, 可以减少土样量或降低保温时间 (如: 10min), 重新调整的样本量 W 和反应时间 T 需代入计算公式重新计算。

五、结果计算：

1、标准曲线方程： $y=0.2647x-0.0058$ ； x 为标准品质量（ μg ）， y 为吸光值 ΔA 。



2、单位定义：每小时每克土样中产生 $1\mu\text{g}$ 对-硝基苯酚（PNP）定义为一个酶活力单位。

土壤 β -木糖苷酶活性($\mu\text{g/h/g}$ 土样) = $(\Delta A + 0.0058) \div 0.2647 \div W \div T = 7.56 \times (\Delta A + 0.0058) \div W$

T---反应时间，30min=0.5h；

W---实际称取干土质量，g；

PNP 相对分子质量---139.11。

附：标准曲线制作过程：

- 1 制备标准品母液（ 1mg/mL ）：向标准品 EP 管里面加入 1ml 蒸馏水。
- 2 把母液稀释成以下浓度梯度的标准品：0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 mg/mL 。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
- 3 在 EP 管加入： $20\mu\text{L}$ 标准品+ $5\mu\text{L}$ 蒸馏水+ $55\mu\text{L}$ 试剂二+ $220\mu\text{L}$ 试剂三，混匀，取 $200\mu\text{L}$ 至 96 孔板中，于 405nm 下读取吸光值。
- 4 根据结果制作标准曲线。