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

微量法 100T/48S

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。

自备实验用品及仪器：

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。

试剂组成和配制：

提取液：液体 100mL×1 瓶，4°C保存。

试剂一：液体 1mL×1 瓶，4°C避光保存。

试剂二：液体 10mL×1 瓶，4°C保存。

试剂三：液体 10mL×1 瓶，4°C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（μL）	40	40
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 ΔA=A 测定管-A 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。

β-木糖苷酶活性（μmol/d /g 土样）=(ΔA-0.0011) ÷13.226×V 反总÷(V 样÷V 样总×W)÷T

=16.33×(ΔA-0.0011)÷W

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。

β-木糖苷酶活性（μmol/d /g 土样）=(ΔA-0.0011) ÷6.613×V 反总÷(V 样÷V 样总×W)÷T

=32.66×(ΔA-0.0011)÷W

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；

ΔA 控制在 0.01-1 范围内，若ΔA 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。