

土壤β-木糖苷酶（Soil-β-xylosidase）测定试剂盒说明书

（货号：G0332F 分光法 24 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×2 支	4℃保存	使用前甩几下使试剂落入底部，再加 2.5mL 蒸馏水溶解备用。
试剂二	液体 20mL×1 瓶	4℃保存	
试剂三	液体 20mL×1 瓶	4℃保存	
标准品	粉剂×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：

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿（光径 1cm）、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 可见分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 405nm，蒸馏水调零。

② 在 EP 管中依次加入：

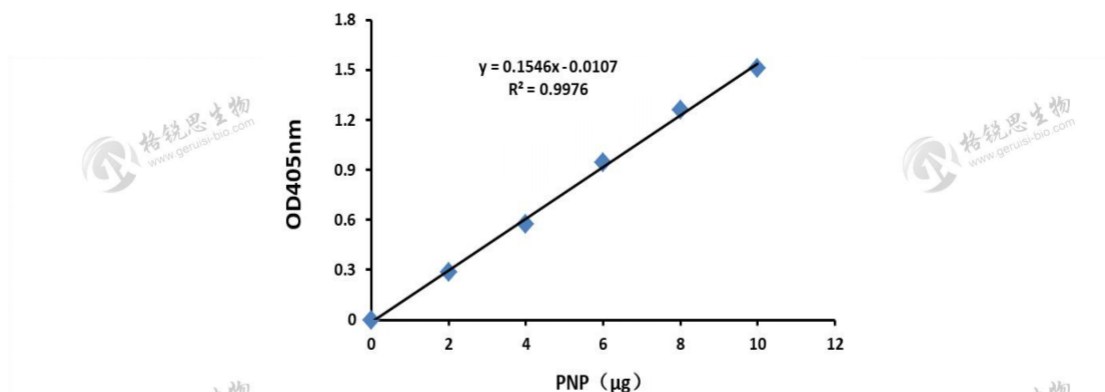
试剂名称	测定管	对照管
风干土样（g）	0.1	0.1
试剂一（μL）	150	
蒸馏水		150
试剂二（μL）	300	300
混匀，40℃振荡反应 2h		
试剂三（μL）	350	350
混匀，12000rpm，离心 10min，取全部上清液至 1mL 玻璃比色皿（光径 1cm）中，于 405nm 下读取吸光值 A， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ （每个样本需做一个自身对照）。		

【注】：1.若 ΔA 过小，可以增加土样量 W 或延长保温时间（如：24h 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 W 或降低保温时间 T（如：30min），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： $y = 0.1546x - 0.0107$ ； 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 1nmol 对-硝基苯酚（PNP）定义为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned}\text{土壤}\beta\text{-木糖苷酶}(\text{nmol/h/g 土样}) &= (\Delta A + 0.0107) \div 0.1546 \div \text{Mr} \times 10^3 \div W \div T \times D \\ &= 23.25 \times (\Delta A + 0.0107) \div W \times D\end{aligned}$$

T---反应时间，2h；

W---实际称取土壤质量，g；

PNP 相对分子质量---139.11；

D---稀释倍数，未稀释即为 1。

附：标准曲线制作过程：

- 1 制备标准品母液（5mg/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, 0.5mg/mL。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
- 3 在 EP 管加入：20 μL 标准品+130 μL 蒸馏水+300 μL 试剂二+350 μL 试剂三，混匀，取全部上清液转移至 1mL 玻璃比色皿（光径 1cm）中，于 405nm 下读取吸光值。
- 4 根据结果制作标准曲线。