

土壤 β -木糖苷酶 (S- β -XYS) 活性检测试剂盒说明书

可见分光光度法

货号: BC4010

规格: 50T/24S

产品组成: 使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致, 有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	自备试剂	-
试剂二	液体 30 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂三	粉剂×2 瓶	-20℃保存
试剂四	液体 60 mL×1 瓶	2-8℃保存
标准品	液体 1 mL×1 支	2-8℃保存

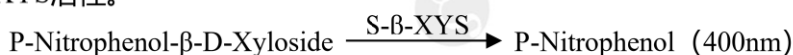
溶液的配制:

- 1、试剂一: 自备甲苯, 大约需要 1.2mL, 常温保存; 试剂盒内提供一个 30mL 棕色空瓶, 仅做分装使用, 请自行标注试剂名称。
- 2、试剂三: 临用前取 1 瓶加入 10 mL 蒸馏水, 充分溶解备用, 用不完的试剂-20℃分装保存 4 周。
- 3、标准品: 5 mmol/L 的对硝基苯酚溶液。

产品说明:

β -木糖苷酶 (EC3.2.1.37, β -XYS) 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。

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400nm处有特征吸收峰, 测定400nm光吸收增加速率, 可计算S- β -XYS活性。



注意: 实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。

需自备的仪器和用品:

可见分光光度计、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、1mL玻璃比色皿、研钵、冰、30-50目筛、甲苯 (>98%, AR) 和蒸馏水。

操作步骤:

一、样本处理 (可适当调整待测样本量, 具体比例可以参考文献)

新鲜土样自然风干或37℃烘箱风干, 过30-50目筛。

二、测定步骤

1、分光光度计预热30min, 波长调至400nm, 蒸馏水调零。

2、标准溶液的稀释: 临用前取20 μ L 5 mmol/L的对硝基苯酚溶液, 加入980 μ L试剂二, 充分混匀, 配制成100 μ mol/L标准液使用, 现用现配。(实验中每管需要500 μ L, 为减小实验误差, 故配制大体积。)

3、加样表:





试剂名称	测定管	对照管	标准管	空白管
风干土样 (g)	0.1	0.1	-	-
试剂一 (μL)	20	20	-	-
振荡混匀, 使土样全部潮湿, 室温放置15min			-	-
试剂二 (μL)	500	500	-	-
试剂三 (μL)	400	-	-	-
混匀, 50℃水浴1h 后, 立即沸水浴5min (缠封口膜, 防止爆盖), 流水/冰浴冷却。			-	-
试剂三 (μL)	-	400	-	-
10000rpm 25℃离心10min, 取上清液			-	-
上清液 (μL)	500	500	-	-
标准品 (μL)	-	-	500	-
蒸馏水 (μL)	-	-	-	500
试剂四 (μL)	1000	1000	1000	1000

充分混匀, 室温静置 2min 后, 10000g 常温离心 5min, 取上清测定 400nm 下的吸光值 A, 分别记为 A 测定管、A 对照管、A 标准管、A 空白管。计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$, $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$ 。每个测定管设一个对照管。空白管和标准管只需做 1-2 次。

三、S-β-XYS 活力计算

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。

S-β-XYS活力 (U/g 土样) = $\Delta A_{\text{测定}} \div (\Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{标准}}) \times V_{\text{反应}} \div W \div T = 2.21 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W$

T: 反应时间, 1h=1/24d; V反应: 反应体系总体积: 9.2×10^{-4} L; C标准: 标准溶液浓度, 100μmol/L; W: 样本质量, g。

实验实例:

1、取两管 0.1g 土样, 即为测定管和对照管, 按照测定步骤操作, 记为 A 测定管、A 对照管。计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}} = 0.46 - 0.221 = 0.239$, $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}} = 0.568 - 0.002 = 0.566$, 计算酶活得:

S-β-XYS 活力 (U/g 土样) = $2.21 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W = 2.21 \times 0.239 \div 0.566 \div 0.1 = 9.3312$ U/g 土样。

2、取两管 0.1g 林土样, 即为测定管和对照管, 按照测定步骤操作, 记为 A 测定管、A 对照管。计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}} = 0.356 - 0.109 = 0.247$, $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}} = 0.568 - 0.002 = 0.566$, 计算酶活得:

S-β-XYS 活力 (U/g 土样) = $2.21 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W = 2.21 \times 0.247 \div 0.566 \div 0.1 = 9.6443$ U/g 土样。

相关发表文献:

[1] Guo QQ, Xiao MR, Zhang GS. The persistent impacts of polyester microfibers on soil bio-physical properties following thermal treatment. J Hazard Mater. 2021 Oct 15; 420:126671. doi: 10.1016/j.jhazmat.2021.126671. Epub 2021 Jul 16. PMID: 34329074.

相关系列产品:

BC3080/BC3085 土壤α-葡萄糖苷酶 (S-α-GC) 活性检测试剂盒

BC0240/BC0245 土壤蔗糖酶 (S-SC) 活性检测试剂盒

