

## 土壤 $\beta$ -木糖苷酶测试盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
SMHB6-M48	土壤 $\beta$ -木糖苷酶(S- $\beta$ -XYS)试剂盒	48T	微量法
SMHB6-M96		96T	

### 一、测定意义

$\beta$ -木糖苷酶存在于植物、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， $\beta$ -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。

### 二、测定原理

以对硝基苯- $\beta$ -D 木糖苷为底物，水解生成对硝基酚，产物显黄色，在 400nm 有特征吸收峰。

### 三、试剂组成

试剂名称	试剂装量 (48T)	试剂装量 (96T)	保存条件
甲苯	自备	自备	4℃ 保存
试剂一	30mL×1 瓶	60mL×1 瓶	4℃ 保存
试剂二	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	-20℃ 保存
<b>试剂二应用液配制：每瓶粉剂加入试剂一 3mL，充分溶解。</b>			
试剂三	6mL×1 瓶	12mL×1 瓶	4℃ 保存
试剂四	30mL×1 瓶	50mL×1 瓶	4℃ 保存
标准品 (1mg/mL)	1mL×1 瓶	1mL×1 瓶	4℃ 保存

### 四、操作步骤

#### 样本前处理

新鲜土样自然风干或者 37℃ 烘箱风干，过 30-50 目筛。

#### 操作步骤

##### 1、培养反应：

	测定管	对照管
土样 (g)	0.05	0.05
甲苯 ( $\mu$ L)	25	25
震荡混匀，使土样全部湿润，室温静置 15min		
试剂一 ( $\mu$ L)	250	250
蒸馏水 ( $\mu$ L)	-	50
试剂二应用液 ( $\mu$ L)	50	-

混匀，37℃孵育 3h		
试剂三 (μL)	50	50

混匀，10000 转/min 常温离心 10min，取上清液备用。

## 2、显色反应：（标准品稀释详见附录 I）

	测定管	对照管	标准管
上清液 (μL)	20	20	-
不同浓度的标准品 (μL)	-	-	20
试剂四 (μL)	180	180	180

混匀，静置 10min，波长 400nm，酶标仪测定各管吸光度值。

**注：每个待测样本需设定一个测定管和一个对照管；**

## 五、单位定义与计算

**单位定义：**每小时每克风干土壤中产生 1μg 对硝基酚为一个酶活力单位

**计算公式：**根据标准曲线，将吸光度值带入标曲计算出上清液中浓度 Y (μg/mL)

$$S-\beta\text{-XYS(U/g 土样)} = (Y_{\text{测定管}} - Y_{\text{对照管}}) \times V_{\text{提取}} \div W \div T$$

**T：反应时间，3h；**

**V<sub>提取</sub>：提取液体积，0.35mL；**

**W：样本质量，0.05g。**

## 六、注意事项

- 1、比色时，溶液呈现淡黄色，在 2h 内保持稳定。
- 2、不同土壤样本的β-木糖苷酶差异较大，根据样本活性可以适当增加或者减少称取样本重量，也可增加反应时间。
- 3、甲苯易挥发，操作时候宜在通风橱中进行。

## 七、公司介绍

陌凡生物科技有限公司是一家专业从事转基因检测、食品安全以及动植物疫病检测为核心业务的生物科技公司。能够为客户提供动植物疫病检测试剂、小分子抗原抗体、植物激素、植物抗体、重组蛋白等优质产品。自主研发了涵盖分子生物学、细胞生物学、免疫学、生物医学等领域的各种试剂盒。产品覆盖面广，品质可靠。

## 附录 I：标准曲线的制备

### 1、前处理：

将 1mg/mL 的标准品用双蒸水稀释成 0、3.125、6.25、12.5、25、50、100 $\mu$ g/mL 标准液进行标准曲线的制备。

### 2、操作表：

标准品浓度 ( $\mu$ g/mL)	0	3.125	6.25	12.5	25	50	100
标准品 ( $\mu$ L)	20	20	20	20	20	20	20
试剂四 ( $\mu$ L)	180	180	180	180	180	180	180

混匀，静置 10min，波长 400nm，酶标仪测定各管吸光度值。

### 3、测定结果：

标准品浓度 ( $\mu$ g/mL)	吸光度值	绝对吸光度值
0	0.0053	0.0000
3.125	0.0263	0.0210
6.25	0.0470	0.0417
12.5	0.0968	0.0915
25	0.1933	0.1880
50	0.3867	0.3814
100	0.7423	0.7370

