

土壤 α -L-阿拉伯呋喃糖苷酶(S- α -Afa)活性测定试剂盒

分光法 24 样

产品简介

土壤 α -L-阿拉伯呋喃糖苷酶 (S- α -Afa, EC 3.2.1.55) 是一种能够水解非还原呋喃阿拉伯糖残基的糖苷酶类。本试剂盒提供一种简单, 灵敏, 快速的测定方法, S- α -Afa 分解对-硝基苯阿拉伯呋喃糖苷生成对-硝基苯酚 (PNP), 后者在 405nm 有最大吸收峰, 通过测定吸光值升高速率即可得出 α -Afa 酶活性大小。

试剂盒组成和配制

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	液体 30mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二	粉剂 mg×1 瓶	4℃保存	临用前甩几下使粉剂落入底部, 再加 15mL 试剂一, 充分溶解备用。
试剂三	液体 15mL×1 瓶	4℃保存	
标准品	粉剂 mg×1 支	4℃保存	若重新做标曲, 则用到该试剂。

所需的仪器和用品

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿 (光径 1cm)、台式离心机、恒温培养箱、分析天平、可调式移液器、蒸馏水。

土壤 α -L-阿拉伯呋喃糖苷酶 (S- α -Afa) 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、样本制备:

取新鲜土样或者 37 度烘箱风干 (需先粗研磨), 过 40 目筛网, 备用。

2、上机检测:

① 可见分光光度计预热 30 min, 调节波长到 405 nm, 蒸馏水调零。

② 在离心管中依次加入下列试剂:。

③ 在 EP 管中依次加入:

试剂名称 (μL)	测定管	对照管
土壤 (g)	0.1g	0.1g
试剂一		500
试剂二	500	
迅速混匀, 37℃保温 1h (间隔 15min 振荡混匀一次)。		
试剂三	300	300
混匀, 12000rpm, 离心 5min, 取出全部上清液至 1mL 玻璃比色皿 (光径 1cm) 中, 立即于 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 A 测定超过 1.8, 可对最后一步的待检测上清液(测定管和对照管)同时进行稀

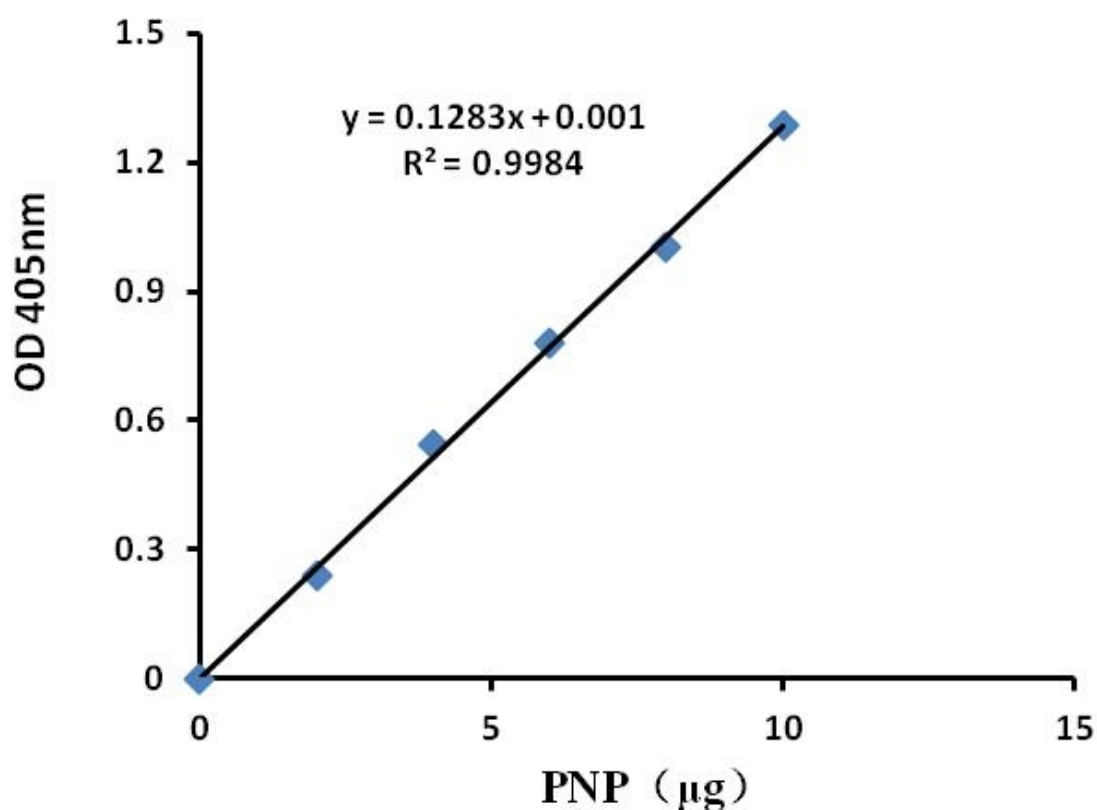
释 (用水稀释即可), 稀释倍数 D 代入计算公式;

2. 若 ΔA 过小, 可以增加土样量或延长保温时间 (如: 2h 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。

3. 若同时检测同一背景下的土壤样本, 此批土壤样本可做一个样本自身对照, 节省时间; 若是不同背景下的土壤样本 (如黑土, 红土, 黄土等), 则每个样本需做一个自身对照, 即按照说明书加样表操作即可。

结果计算**1、标准曲线:**

$y = 0.1283x + 0.001$; x 是标准品 PNP 质量 (μg), y 是 ΔA 。



2、活性定义: 在 37°C, 每小时每克土壤产生 1 μg 对-硝基苯酚 (PNP) 定义为 1 个酶

活单位。S- α -Afa($\mu\text{g}/\text{h}/\text{g}$ 土样)=[(ΔA -0.001) $\div$ 0.1283] $\div$ W $\div$ T $\times$ D=7.8 $\times$ (ΔA -0.001) $\div$ WD

W---土壤样品质量, g; D---稀释倍数, 未稀释即为 1;

T---催化反应时间, 1 h; 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 蒸馏水溶解，若有结晶析出，需 37°C水浴至完全溶解。
2. 把母液稀释成以下浓度梯度的标准品：0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1 mg/mL。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
3. 在 EP 管中直接加入：10 μ L 标准品+490 μ L 试剂一+300 μ L 试剂三，混匀，全部上清液转移至 1mL 玻璃比色皿（光径 1cm）中，立即于 405nm 下读取吸光值 A。
4. 根据结果制作标准曲线。