

土壤 α -木糖苷酶试剂盒

微板法 48 样

产品简介

α -木糖苷酶(EC 3.2.1.177)是一类木聚糖降解水解酶，存在于微生物等生物体，促使非还原末端 α -D-木糖残基的水解，释放出 α -D-木糖。

土壤中 α -木糖苷酶催化对硝基苯酚- α -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 α -木糖苷酶活性。

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 $\times$ 1 支	4 $^{\circ}$ C保存	用前甩几下使试剂落入底部， 再加 1.4mL 蒸馏水溶解备用。
试剂二	液体 6mL $\times$ 1 瓶	4 $^{\circ}$ C保存	
试剂三	液 22mL $\times$ 1 瓶	4 $^{\circ}$ C保存	
标准品	粉剂 $\times$ 1 支	4 $^{\circ}$ C保存	若重新做标曲，则用到该试剂

所需的仪器和用品

酶标仪、96 孔板、可调式移液器、天平、低温离心机、蒸馏水。

土壤 α -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 酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 405 nm。

② 在 EP 管中依次加入：

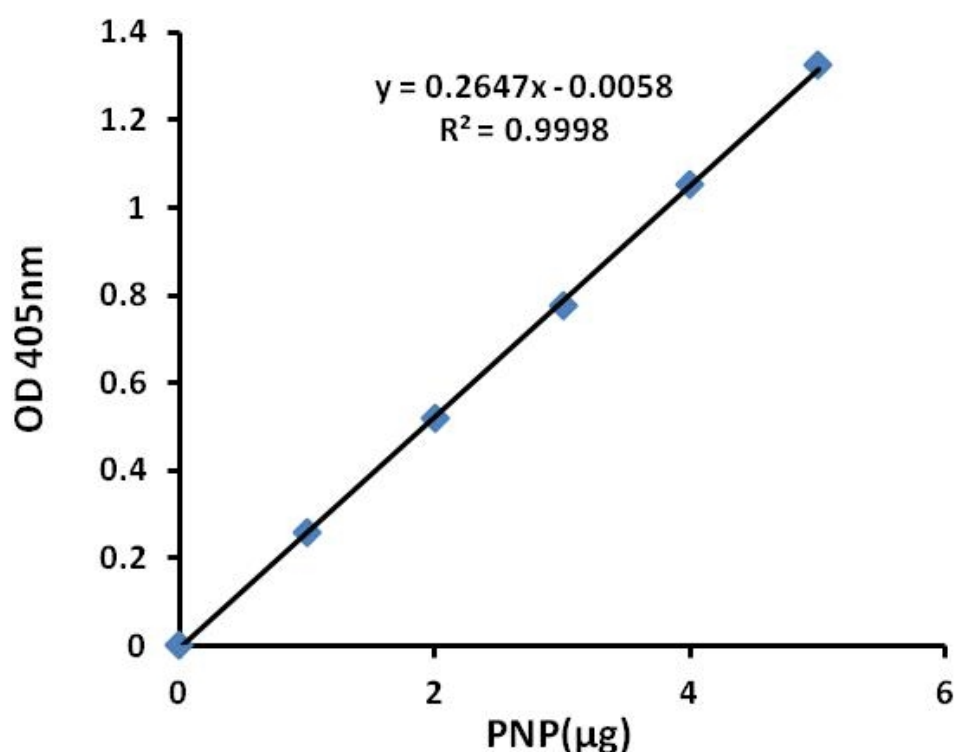
试剂名称	测定管	对照管
土样（g）	0.1	0.1
试剂一（μL）	25	
蒸馏水		25
试剂二（μL）	55	55
混匀，45℃振荡反应 30min		
试剂三（μL）	220	220
混匀，12000rpm，离心 10min，取上清液 200μL 于 96 孔板中，405nm 下读取吸光值 A， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ （每个样本需做一个自身对照）。		

[注]：1.若ΔA 过小，可以增加土样量或延长保温时间（如：60min 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，可以减少土样量或降低保温时间（如：10min），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。

结果计算**1、标准曲线:**

$y=0.2647x-0.0058$; 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 $1\mu\text{g}$ 对-硝基苯酚 (PNP) 定义为一个酶活力单位。

土壤 α -木糖苷酶活性($\mu\text{g/h/g}$ 土样) = $(\Delta A + 0.0058) \div 0.2647 \div W \div T = 7.56 \times (\Delta A + 0.0058) \div W$

T---反应时间, 30min=0.5h; W---实际称取干土质量, g;

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。
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 μ L 标准品+5 μ L 蒸馏水+55 μ L 试剂二+220 μ L 试剂三,混匀,取 200 μ L 至 96 孔板中, 于 405nm 下读取吸光值。
4. 根据结果制作标准曲线。