

土壤 α -木糖苷酶试剂盒

分光法 24 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	使用前甩几下使试剂落入底部，再加 2mL 蒸馏水溶解备用。
试剂二	液体 15mL \times 1 瓶	4 $^{\circ}$ C 保存	
试剂三	液 33mL \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:

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。

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 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)	0.2	0.2
试剂一 (μL)	75	
蒸馏水		75
试剂二 (μL)	165	165
混匀，40℃振荡反应 30min。		
试剂三 (μL)	660	660
混匀，12000rpm，离心 10min,取全部上清液转移至 1mL 玻璃比色皿中，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）。		

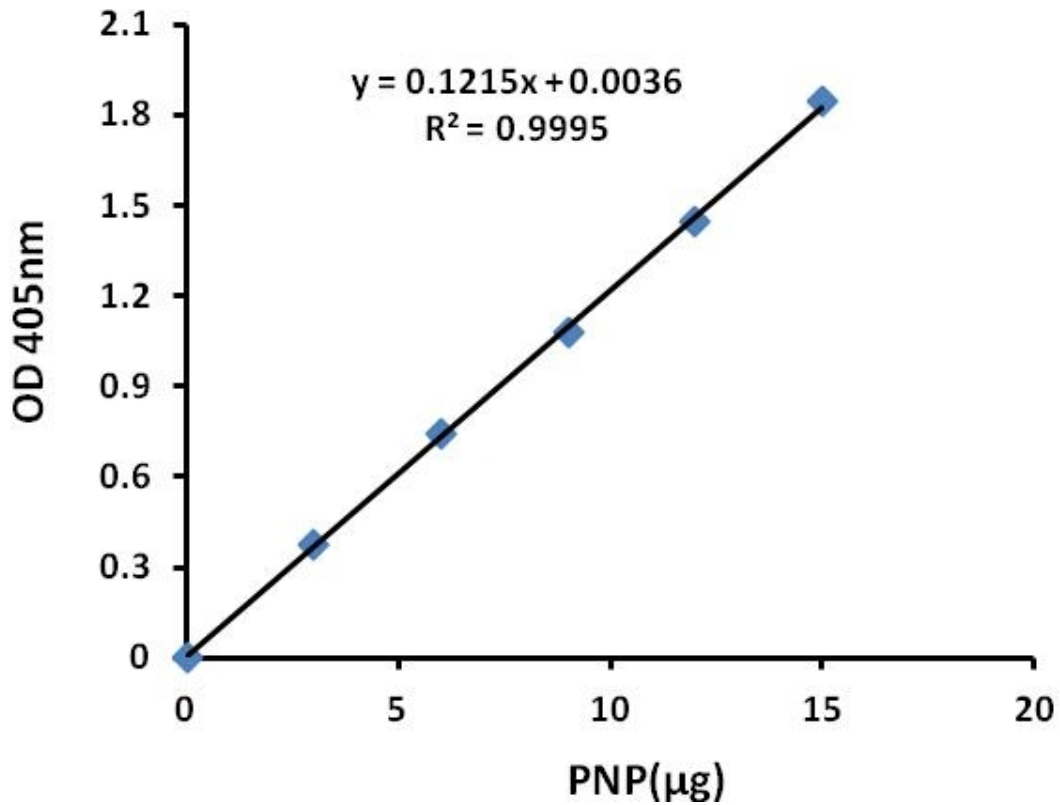
[注]：1. 若 ΔA 过小，可以增加土样量或延长保温时间（如：60min 或更长），重新调整的样本量 W 和反应时间 T 需代入计算公式重新计算。

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、标准曲线方程：

$y=0.1215x+0.0036$; 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($\mu\text{g}/\text{h}/\text{g}$ 土样) = $(\Delta A - 0.0036) \div 0.1215 \div W \div T$

= $16.5 \times (\Delta A - 0.0036) \div W$

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：60 μ L 标准品+15 μ L 蒸馏水+165 μ L 试剂二+660 μ L 试剂三，混匀，取全部上清液转移至 1mL 玻璃比色皿中，于 405nm 下读取吸光值。
4. 根据结果制作标准曲线。