

土壤 α -木糖苷酶试剂盒说明书

(货号: ADS-W-TR048-48 微板法 48 样)

有效期: 6 个月

一、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。

二、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 3 支	4 $^{\circ}$ C 保存	使用前甩几下使试剂落入底部, 再加 3mL 蒸馏水溶解备用。
试剂二	液体 35mL \times 1 瓶	4 $^{\circ}$ C 保存	
试剂三	液 40mL \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。

三、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。

四、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、样本的制备:

取新鲜土样风干或者 37 $^{\circ}$ C 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 30min 以上, 调节波长至 405nm。
- ② 在 EP 管中依次加入:

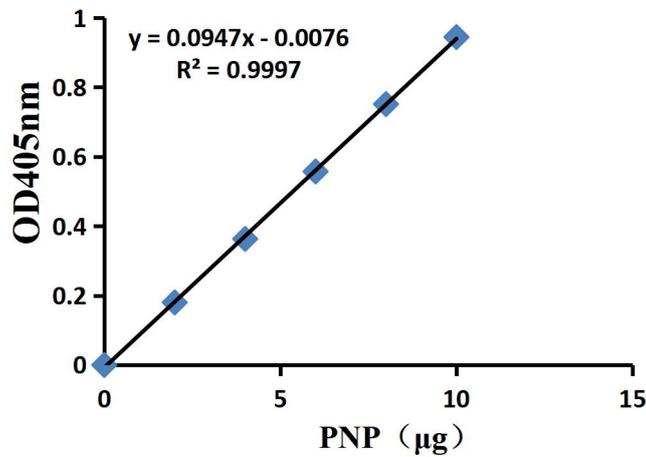
试剂名称	测定管	对照管
风干土样 (g)	0.1	0.1
试剂一 (μ L)	150	
蒸馏水		150
试剂二 (μ L)	300	300
混匀, 40 $^{\circ}$ C 振荡反应 2h		
试剂三 (μ L)	350	350

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W或延长保温时间（如：24h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W或降低保温时间T（如：30min），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。

五、结果计算：

- 1、标准曲线： $y = 0.0947x - 0.0076$ ；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1nmol对-硝基苯酚（PNP）定义为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{土壤}\alpha\text{-木糖苷酶}(\text{nmol/h/g 土样}) &= (\Delta A + 0.0076) \div 0.0947 \div M_r \times 10^3 \div W \div T \times D \\ &= 37.95 \times (\Delta A + 0.0076) \div W \times D \end{aligned}$$

T---反应时间，2h；

W---实际称取土壤质量，g；

PNP 相对分子质量---139.11；

D---稀释倍数，未稀释即为1。

附：标准曲线制作过程：

- 1 制备标准品母液（5mg/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：20μL标准品+130μL蒸馏水+300μL试剂二+350μL试剂三，混匀，取200μL至96孔板中，于405nm下读取吸光值。
- 4 根据结果制作标准曲线。