

# 土壤 $\alpha$ -木糖苷酶试剂盒

微板法 48 样

## 产品简介:

$\alpha$ -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 $\alpha$ -D-木糖残基的水解,释放出 $\alpha$ -D-木糖。

土壤中 $\alpha$ -木糖苷酶催化对硝基苯酚- $\alpha$ -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 $\alpha$ -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	用前用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 $\alpha$ -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°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 30 min 以上，调节波长至 405 nm。

② 在 EP 管中依次加入：

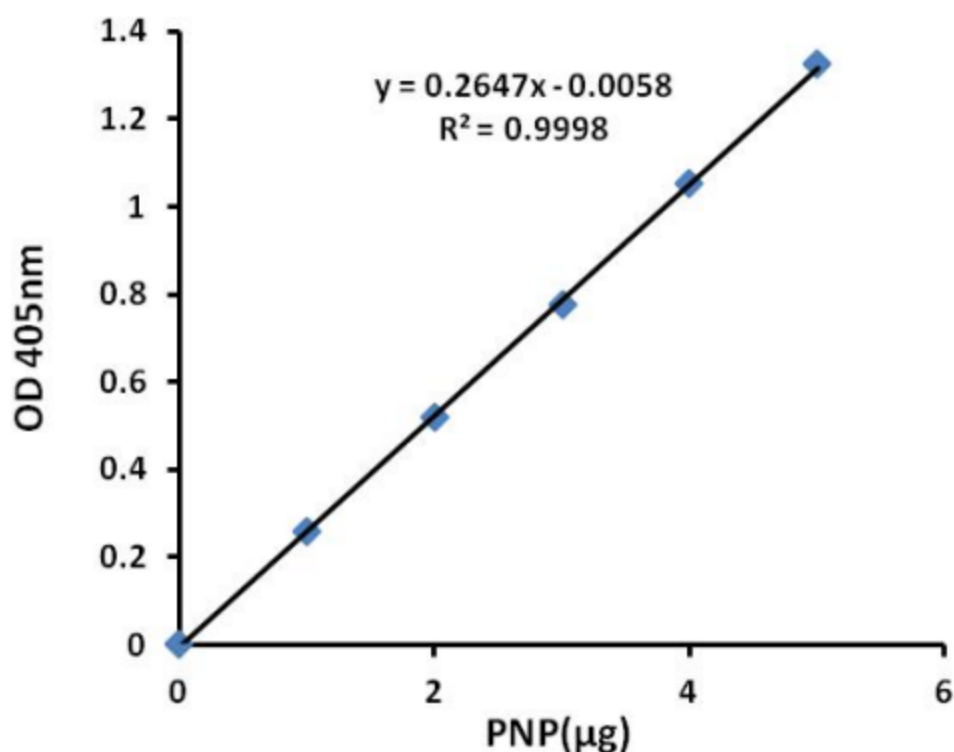
试剂名称	测定管	对照管
土样 (g)	0.1	0.1
试剂一 (μL)	25	
蒸馏水		25
试剂二 (μL)	55	55
混匀，45°C 振荡反应 30 min		
试剂三 (μL)	220	220
混匀，12000rpm，离心 10min，取上清液 200μL 于 96 孔板中，405nm 下读取吸光值 A， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ （每个样本需做一个自身对照）。		

**[注]:** 1.若 $\Delta A$  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： $y=0.2647x-0.0058$ ；x 为标准品质量 (μg)，y 为吸光值 $\Delta A$ 。



2、**单位定义：**每小时每克土样中产生 1µg 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(µg/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：20µL 标准品+5µL 蒸馏水+55µL 试剂二+220µL 试剂三,混匀,取 200 µL 至 96 孔板中,于 405nm 下读取吸光值。

4 根据结果制作标准曲线。