

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。

试剂盒组成与配制:

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°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:

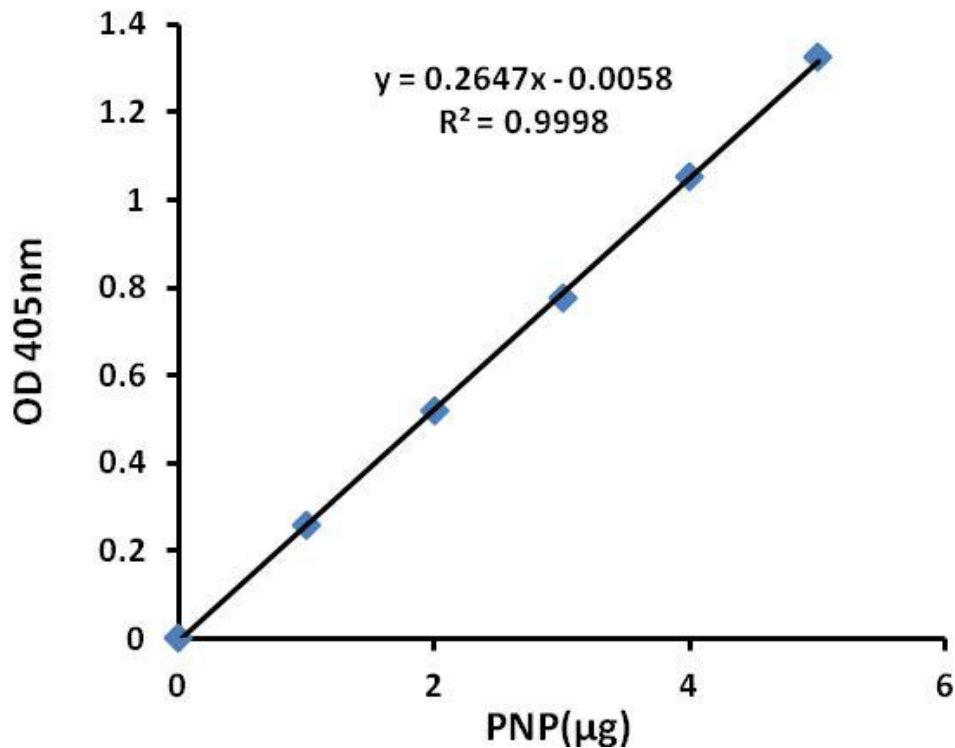
试剂名称	测定管	对照管
土样 (g)	0.1	0.1
试剂一 (μL)	25	
蒸馏水		25
试剂二 (μL)	55	55
混匀, 45°C振荡反应 30min		
试剂三 (μL)	220	220
混匀, 12000rpm, 离心 10min, 取上清液 200 μL 于 96 孔板中, 405nm 下读取吸光值 A, $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ (每个样本需做一个 自身对照)。		

【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、**标准曲线方程:** $y = 0.2647x - 0.0058$; 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 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)=(ΔA+0.0058)÷0.2647÷W÷T=7.56×(ΔA+0.0058)
÷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。