

土壤 α -木糖苷酶 (Soil- α -xylosidase) 测定试剂盒说明书

(货号: G0333F 分光法 24 样)

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 2 支	4 $^{\circ}$ C保存	使用前甩几下使试剂落入底部,再加 2.5mL 蒸馏水溶解备用。
试剂二	液体 20mL \times 1 瓶	4 $^{\circ}$ C保存	
试剂三	液体 20mL \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:

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。

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 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:

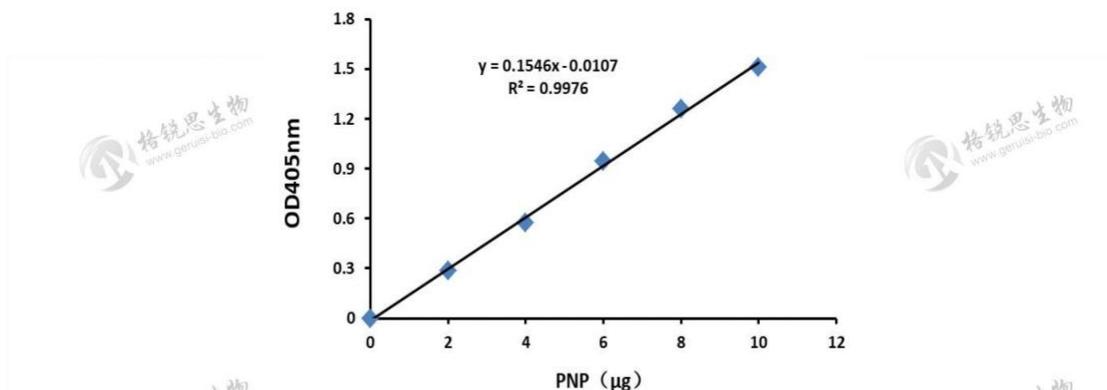
试剂名称	测定管	对照管
风干土样 (g)	0.1	0.1
试剂一 (μ L)	150	
蒸馏水		150
试剂二 (μ L)	300	300
混匀, 40 $^{\circ}$ C振荡反应 2h		
试剂三 (μ L)	350	350
混匀, 12000rpm, 离心 10min, 取全部上清液至 1mL 玻璃比色皿(光径 1cm)中,于 405nm 下读取吸光值 A, $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ (每个样本需做一个自身对照)。		

【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、标准曲线方程： $y = 0.1546x - 0.0107$ ； 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。

$$\begin{aligned} \text{土壤}\alpha\text{-木糖苷酶}(\text{nmol/h/g 土样}) &= (\Delta A + 0.0107) \div 0.1546 \div \text{Mr} \times 10^3 \div \text{W} \div \text{T} \times \text{D} \\ &= 23.25 \times (\Delta A + 0.0107) \div \text{W} \times \text{D} \end{aligned}$$

T---反应时间，2h；

W---实际称取干土质量，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。也可根据实际本来调整标准品浓度。
- 3 在 EP 管加入：20 μL 标准品+130 μL 蒸馏水+300 μL 试剂二+350 μL 试剂三，混匀，取全部上清液转移至 1mL 玻璃比色皿（光径 1cm）中，于 405nm 下读取吸光值。
- 4 根据结果制作标准曲线。