

# 土壤 $\alpha$ -木糖苷酶 (Solid- $\beta$ - xylosidase) 测定试剂盒

分光法 24 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	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 $\alpha$ - 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 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 (μL)	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°C 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)。		

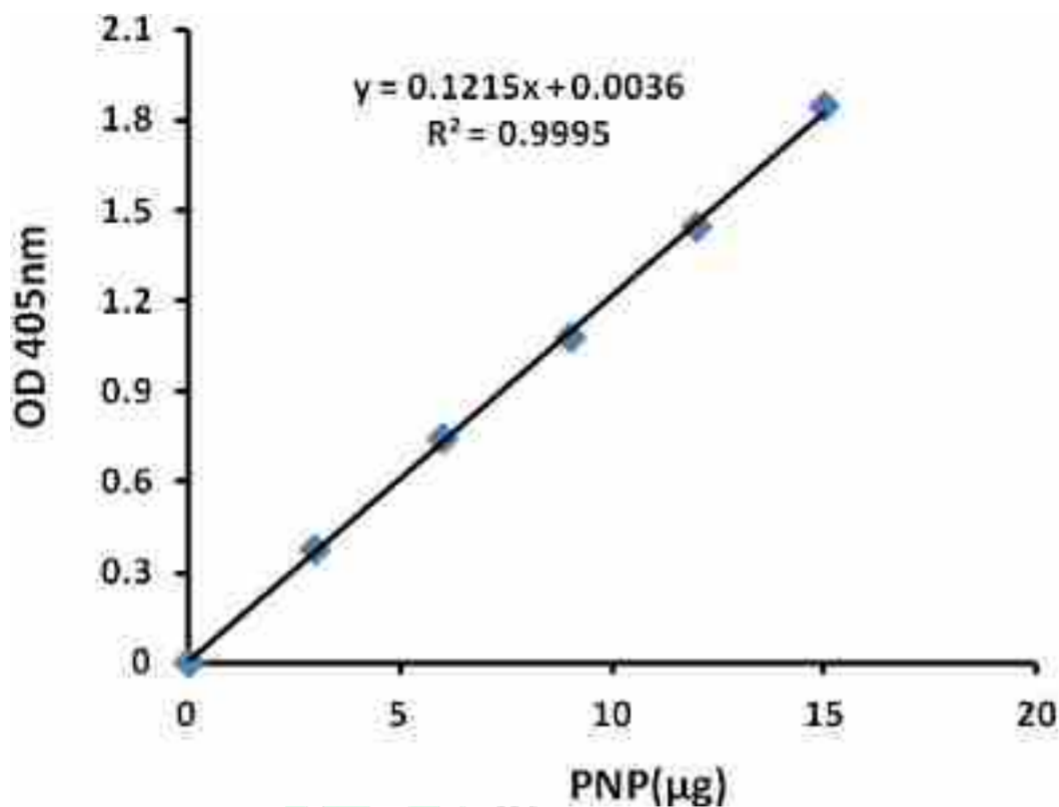
**[注]:** 1. 若  $\Delta A$  过小, 可以增加土样量或延长保温时间 (如: 60min 或更长), 重新调整的样本量 W 和反应时间 T 需代入计算公式重新计算。

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、标准曲线方程为：**

$y=0.1215x+0.0036$ ; x 为标准品质量 ( $\mu\text{g}$ ) , y 为吸光值 $\Delta A$ 。



**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 $\alpha$ -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 ( $1\text{mg}/\text{mL}$ ) : 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 $\mu$ L 标准品+15 $\mu$ L 蒸馏水+165 $\mu$ L 试剂二+660 $\mu$ 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。

mlbio 酶联生物  
Good elisakit producers