

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

(货号: G0333F 分光法 24 样)

### 一、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。

### 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 $\times$ 1 支   | 4℃ 保存 | 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℃ 保存 |                              |
| 试剂三  | 液 33mL $\times$ 1 瓶  | 4℃ 保存 |                              |
| 标准品  | 粉剂 $\times$ 1 支      | 4℃ 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 $\alpha$ -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、样本的制备:

取新鲜土样风干或者 37℃ 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:

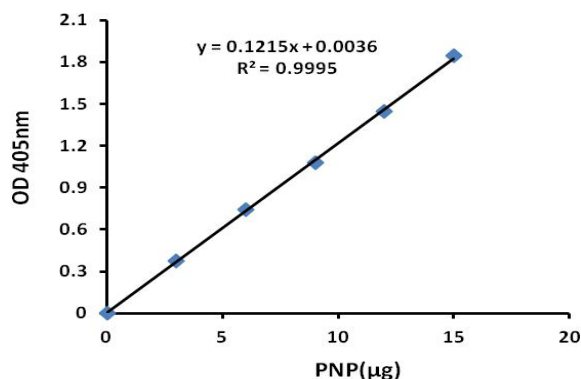
| 试剂名称                                                                                                                 | 测定管 | 对照管 |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|-----|
| 风干土样 (g)                                                                                                             | 0.2 | 0.2 |
| 试剂一 ( $\mu$ L)                                                                                                       | 75  |     |
| 蒸馏水                                                                                                                  |     | 75  |
| 试剂二 ( $\mu$ L)                                                                                                       | 165 | 165 |
| 混匀, 40℃ 振荡反应 30min                                                                                                   |     |     |
| 试剂三 ( $\mu$ L)                                                                                                       | 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。

## 五、结果计算：

1、标准曲线方程： $y=0.1215x+0.0036$ ； $x$  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。

$$\begin{aligned}\text{土壤}\alpha\text{-木糖苷酶活性}(\mu\text{g/h/g 土样}) &= (\Delta A - 0.0036) \div 0.1215 \div W \div T \\ &= 16.5 \times (\Delta A - 0.0036) \div W\end{aligned}$$

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 ( $1\text{mg/mL}$ )：向标准品 EP 管里面加入  $1\text{ml}$  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,  $0.5\text{mg/mL}$ 。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
- 3 在 EP 管加入：60 $\mu\text{L}$  标准品+15 $\mu\text{L}$  蒸馏水+165 $\mu\text{L}$  试剂二+660 $\mu\text{L}$  试剂三，混匀，取全部上清液转移至  $1\text{mL}$  玻璃比色皿中，于  $405\text{nm}$  下读取吸光值。
- 4 根据结果制作标准曲线。