

土壤 α -L-阿拉伯呋喃糖苷酶 (S- α -Afa) 活性测定试剂盒说明书

(货号:G0345F 分光法 24 样)

一、产品简介:

土壤 α -L-阿拉伯呋喃糖苷酶 (S- α -Afa, EC 3.2.1.55) 是一种能够水解非还原呋喃阿拉伯糖残基的糖苷酶类。

本试剂盒提供一种简单, 灵敏, 快速的测定方法, S- α -Afa分解对-硝基苯阿拉伯呋喃糖苷生成对-硝基苯酚 (PNP), 后者在405nm有最大吸收峰, 通过测定吸光值升高速率即可得出 α -Afa酶活性大小。

二、试剂盒组分与配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	液体 30mL×1 瓶	4℃ 保存	
试剂二	粉剂 mg×1 瓶	4℃ 保存	临用前甩几下使粉剂落入底部, 再加 15mL 试剂一, 充分溶解备用。
试剂三	液体 15mL×1 瓶	4℃ 保存	
标准品	粉剂 mg×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)、台式离心机、恒温培养箱、分析天平、可调式移液器、蒸馏水。

四、土壤 α -L-阿拉伯呋喃糖苷酶 (S- α -Afa) 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:

取新鲜土样或者 37 度烘箱风干 (需先粗研磨), 过 40 目筛网, 备用。

2、上机检测:

① 可见分光光度计预热 30 min, 调节波长到 405 nm, 蒸馏水调零。

② 在离心管中依次加入下列试剂:

试剂名称 (μ L)	测定管	对照管
土壤 (g)	0.1g	0.1g
试剂一		500
试剂二	500	
迅速混匀, 37℃ 保温 1h (间隔 15min 振荡混匀一次)		
试剂三	300	300
混匀, 12000rpm, 离心 5min, 取出全部上清液至 1mL 玻璃比色皿 (光径 1cm) 中, 立即于 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)。		

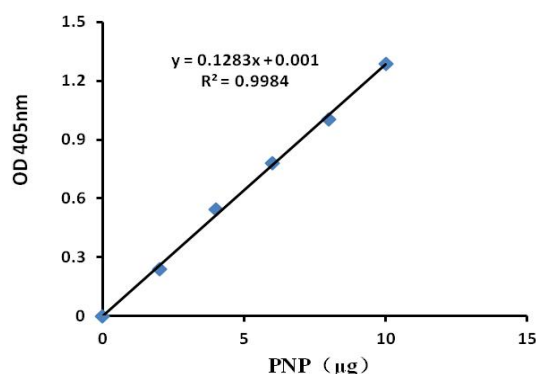
【注】: 1. 若 A 测定超过 1.8, 可对最后一步的待检测上清液(测定管和对照管)同时进行稀释 (用水稀释即可), 稀释倍数 D 代入计算公式;

2. 若 ΔA 过小, 可以增加土样量或延长保温时间 (如: 2h 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。

3. 若同时检测同一背景下的土壤样本，此批土壤样本可做一个样本自身对照，节省时间；若是不同背景下的土壤样本（如黑土，红土，黄土等），则每个样本需做一个自身对照，即按照说明书加样表操作即可，

五、结果计算：

- 1、标准曲线： $y = 0.1283x + 0.001$ ； x 是标准品 PNP 质量（ μg ）， y 是 ΔA 。



- 2、活性定义：在 37℃，每小时每克土壤产生 1 μg 对-硝基苯酚（PNP）定义为 1 个酶活单位。

$$S-\alpha\text{-Afa}(\mu\text{g/h/g 土样}) = [(\Delta A - 0.001) \div 0.1283] \div W \div T \times D = 7.8 \times (\Delta A - 0.001) \div W \times D$$

W---土壤样品质量，g；

D---稀释倍数，未稀释即为 1；

T---催化反应时间，1 h；

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 蒸馏水溶解，若有结晶析出，需 37℃ 水浴至完全溶解。
- 2 把母液稀释成以下浓度梯度的标准品：0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1 mg/mL。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
- 3 在 EP 管中直接加入：10 μL 标准品+490 μL 试剂一+300 μL 试剂三，混匀，全部上清液转移至 1mL 玻璃比色皿（光径 1cm）中，立即于 405nm 下读取吸光值 A。
- 4 根据结果制作标准曲线。