

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

(货号: G0333W 微板法 48 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 $^{\circ}$ C 保存 | 使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。                  |

### 三、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。

### 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 $^{\circ}$ 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 酶标仪预热 30min 以上,调节波长至 405nm。

② 在 EP 管中依次加入:

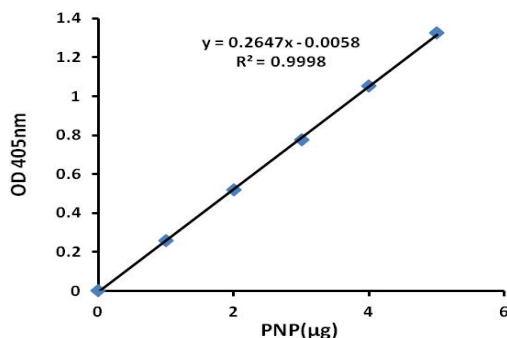
| 试剂名称  | 测定管 | 对照管 |
|---|-----|-----|
| 土样 (g)  | 0.1 | 0.1 |
| 试剂一 ( $\mu$ L)  | 25  |     |
| 蒸馏水   |     | 25  |
| 试剂二 ( $\mu$ L)  | 55  | 55  |
| 混匀, 45 $^{\circ}$ C 振荡反应 30min  |     |     |
| 试剂三 ( $\mu$ L)  | 220 | 220 |
| 混匀, 12000rpm, 离心 10min, 取上清液 200 $\mu$ L 于 96 孔板中, 405nm 下读取吸光值 A, $\Delta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

**【注】:** 1.若 $\Delta A$ 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： $y=0.2647x-0.0058$ ；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( $\mu\text{g/h/g}$  土样) =  $(\Delta A + 0.0058) \div 0.2647 \div W \div T = 7.56 \times (\Delta A + 0.0058) \div W$

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 ( $1\text{mg/mL}$ )：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：20 $\mu\text{L}$  标准品+5 $\mu\text{L}$  蒸馏水+55 $\mu\text{L}$  试剂二+220 $\mu\text{L}$  试剂三，混匀，取 200 $\mu\text{L}$  至 96 孔板中，于 405nm 下读取吸光值。
- 4 根据结果制作标准曲线。