

土壤 β -木糖苷酶试剂盒说明书

(货号: ADS-W-TR048 微板法 48 样)

有效期: 6 个月

一、产品简介:

β -木糖苷酶(EC3.2.1.37)是一类重要的木聚糖降解水解酶, 存在于细菌和真菌等生物体, 主要从非还原末端把木二糖和低聚木糖催化切割为木糖单体, 产物木糖可作为碳源应用于微生物发酵。

土壤中 β -木糖苷酶催化对硝基苯酚- β -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 β -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 3 支	4°C保存	使用前甩几下使试剂落入底部, 再加 3mL 蒸馏水溶解备用。
试剂二	液体 35mL×1 瓶	4°C保存	
试剂三	液 40mL×1 瓶	4°C保存	
标准品	粉剂 1 支	4°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 β -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°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:

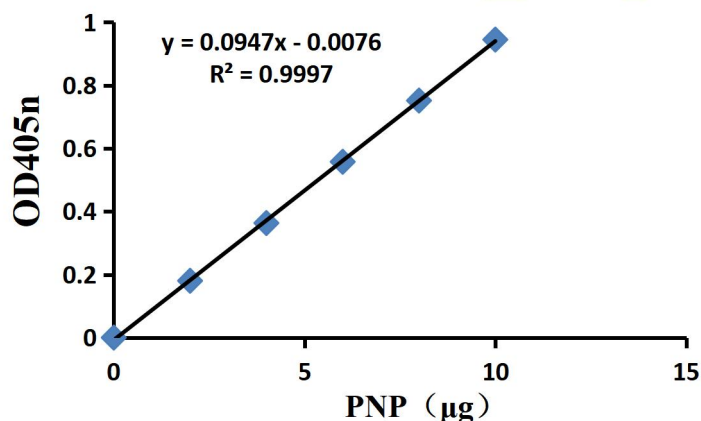
试剂名称	测定管	对照管
风干土样 (g)	0.1	0.1
试剂一 (μ L)	150	
蒸馏水		150
试剂二 (μ L)	300	300
混匀, 40°C振荡反应 2h		

试剂三 (μL)	350	350
混匀, 12000rpm, 离心 10min, 取上清液 200μL 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 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: $y = 0.0947x - 0.0076$; 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。
- $$\text{土壤}\beta\text{-木糖苷酶}(\text{nmol/h/g 土样}) = (\Delta A + 0.0076) \div 0.0947 \div \text{Mr} \times 10^3 \div W \div T \times D$$
- $$= 37.95 \times (\Delta A + 0.0076) \div W \times D$$

T---反应时间, 2h;

W---实际称取土壤质量, 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。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
- 3 在 EP 管加入: 20μL 标准品+130μL 蒸馏水+300μL 试剂二+350μL 试剂三, 混匀, 取 200μL 至 96 孔板中, 于 405nm 下读取吸光值。
- 4 根据结果制作标准曲线。