

土壤 α -L-阿拉伯呋喃糖苷酶(S- α -Afa)活性试剂

分光法 24 样

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味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。

试剂盒组成和配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	液体 30mL×1 瓶	4°C保存	
试剂二	粉剂 mg×1 瓶	4°C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°C保存	
标准品	粉剂 mg×1 支	4°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)、台式离心机、恒温培养箱、分析天平、可调式移液器、蒸馏水。

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：

③ 在 EP 管中依次加入：

试剂名称 (μL)	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；

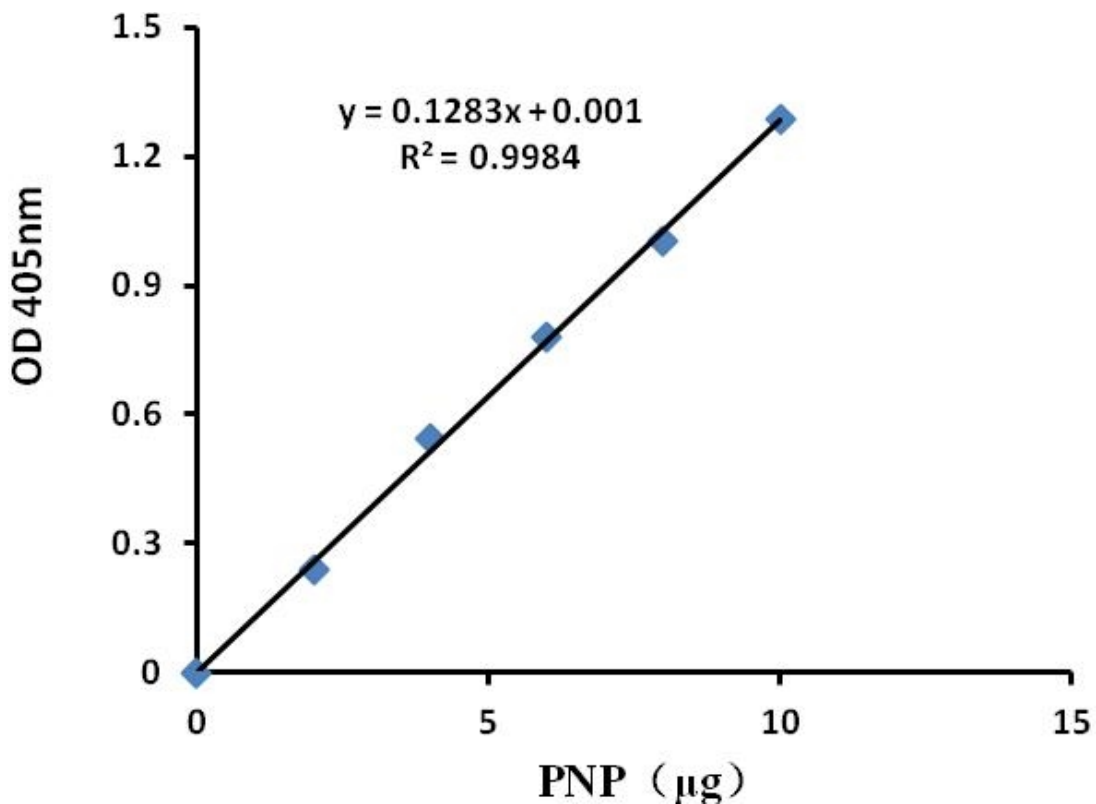
2. 若 ΔA 过小，可以增加土样量或延长保温时间 (如: 2h 或更长)，重新调整的样本量 W 和反应时间 T 需代入计算公式重新计算。

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。

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°C, 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- α

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

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°C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 μ L 标准品+490 μ L 试剂一+300 μ L 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。