

土壤 α -L-阿拉伯呋喃糖苷酶 (α -L-Af) 活性检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
SMHD4-M48	土壤 α -L-阿拉伯呋喃糖苷酶(α -L-Af) 试剂盒	48T	微量法
SMHD4-M96		96T	微量法

一、测定意义:

α -L-阿拉伯呋喃糖苷酶 (α -L-Af) 属于糖基水解酶家族, 可以从含有阿拉伯糖残基的多聚物如阿拉伯木聚糖、阿拉伯聚糖和阿拉伯半乳聚糖等的非还原末端水解生成一个 L-阿拉伯糖分子。

二、测定原理:

以对硝基苯- α -L-阿拉伯呋喃糖苷为底物, 水解生成对硝基酚, 产物显黄色, 在 400nm 有特征吸收峰。

三、试剂盒组成:

试剂编号	试剂名称	试剂装量 (48T)	试剂装量 (96T)	保存条件
R0	甲苯	自备	自备	2~8℃ 保存
R1	试剂一	35mL×1 瓶	60mL×1 瓶	2~8℃ 保存
R2	试剂二	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	-20℃ 保存
	试剂二应用液配制: 每瓶粉剂加入试剂一 3mL, 充分溶解。			
R3	试剂三	10mL×1 瓶	20mL×1 瓶	2~8℃ 保存
R4	试剂四	12mL×1 瓶	24mL×1 瓶	2~8℃ 保存
R5	标准品 (1mg/mL)	1mL×1 瓶	1mL×1 瓶	2~8℃ 保存

四、操作步骤:

一、样本前处理

新鲜土样自然风干或者 37℃ 烘箱风干, 过 30-50 目筛。

二、操作步骤

1、培养反应:

	测定管	对照管
土样 (g)	0.1	0.1
甲苯 (μ L)	50	50
震荡混匀, 使土样全部湿润, 室温静置 15min		
试剂一 (μ L)	500	500
蒸馏水 (μ L)	-	100
试剂二应用液 (μ L)	100	-
混匀, 37℃ 孵育 3h		
试剂三 (μ L)	100	100

混匀, 10000 转/min 常温离心 10min, 取上清液备用。

2、显色反应: (标准品稀释详见附录 I)

	测定管	对照管	标准管
上清液 (μ L)	20	20	-
不同浓度的标准品 (μ L)	-	-	20

试剂四 (μL)	180	180	180
----------	-----	-----	-----

混匀，静置 10min，于波长 400nm，测定各管吸光度值。

注：每个待测样本需设定一个测定管和一个对照管；

五、单位定义与计算：

单位定义：每小时每克风干土壤中产生 1μg 对硝基酚为一个酶活力单位

计算公式：根据标准曲线，将吸光度值带入标曲计算出上清液中浓度 Y (μg/mL)

$$S-GAL(U/g \text{ 土样}) = (Y_{\text{测定管}} - Y_{\text{对照管}}) \times V_{\text{提取}} \div W \div T$$

T：反应时间，1h；

V_{提取}：提取液体积，0.7mL；

W：样本质量，0.1g。

六、注意事项：

- 1、比色时，溶液呈现淡黄色，在 2h 内保持稳定。
- 2、不同土壤样本的α-L-阿拉伯呋喃糖苷酶差异较大，根据样本活性可以适当增加或者减少称取样本重量，也可增加反应时间。
- 3、甲苯易挥发，操作时候宜在通风橱中进行。

附录 I：标准曲线的制备

1、前处理：

将 1mg/mL 的标准品用双蒸水稀释成 0、3.125、6.25、12.5、25、50、100 μ g/mL 标准液进行标准曲线的制备。

2、操作表：

标准品浓度 (μ g/mL)	0	3.125	6.25	12.5	25	50	100
标准品 (μ L)	20	20	20	20	20	20	20
试剂四 (μ L)	180	180	180	180	180	180	180

混匀，静置 10min，于波长 400nm，测定各管吸光度值。

3、测定结果：

标准品浓度 (μ g/mL)	吸光度值
0	0
3.125	0.0241
6.25	0.0501
12.5	0.0945
25	0.2024
50	0.3833
100	0.7912

