

土壤木聚糖酶/土壤半纤维素酶（可见分光光度法）

产品货号：BA2805

产品规格：24样

产品简介：

半纤维素酶主要检测木聚糖酶活力，是将木聚糖降解成低聚糖和木糖的一组酶的总称，广泛应用于酿造和饲料工业中。

土壤半纤维素酶在酸性环境下能将木聚糖降解成还原性寡糖和单糖，进一步在沸水浴条件下与3,5-二硝基水杨酸发生显色反应，在540nm处有特征吸收峰，反应液颜色的深浅与酶解产生的还原糖量成正比，通过测定反应液在540nm吸光值增加速率，即可计算该酶活力大小。

产品内容：

| 产品名称 | 规格 | 保存条件 | 备注 |
|------|-----------|-------|----------------|
| 试剂一 | 液体50mL×1瓶 | 2-8°C | |
| 试剂二 | 液体8mL×1瓶 | 2-8°C | |
| 试剂三 | 液体10mL×1瓶 | 2-8°C | |
| 标准品 | 粉剂×1支 | 2-8°C | 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）、可调式移液器、天平、常温离心机、空气浴(恒温震荡仪)、水浴锅。

土壤半纤维素酶活性测定：

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. 样本制备：

取新鲜土样或干土(风干或者37度烘箱风干)，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 可见分光光度计预热30min，调节波长至540nm，蒸馏水调零。

② 在EP管中依次加入：

| 试剂名称 (μL) | 测定管 | 对照管 |
|-----------|-----|-----|
| 土样 (g) | 0.3 | 0.3 |
| 试剂一 | 600 | 900 |
| 试剂二 | 300 | |

充分混匀，40°C培养6小时(振荡培养或间隔一段时间手动振荡混匀几下)，
12000rpm，25°C离心10min，上清液待用。

③ 显色反应，在EP管中依次加入：

| | | |
|--|-----|-----|
| 上清液 | 40 | 40 |
| 试剂三 | 200 | 200 |
| 混匀，沸水浴(95-100°C，可用封口膜缠紧，防止水分流失)5min后，冷却至室温 | | |
| 蒸馏水 | 800 | 800 |



郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

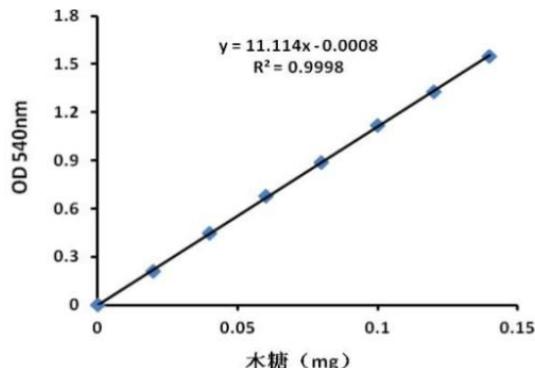
扫一扫 加微信

混匀, 取 800 μ L 液体至 1mL 玻璃比色皿 (光径 1cm) 中, 于 540nm 处读取
吸光值 A, $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ 。

【注】：1.若 ΔA 较小, 可延长 40°C 的孵育时间 T(如 24 小时或更长), 或增加土样质量 W, 或增加③步显色反应步骤中的上清液 V1(如由 40 μ L 增至 240 μ L 或更多, 则蒸馏水相应减少)。则改变后的 T 和 W 和 V1 需代入计算公式重新计算。
2.若测定管 A 值大于 1.5 或 ΔA 大于 1, ③步显色反应步骤中的上清液可用蒸馏水稀释, 则稀释倍数 D 代入公式计算。

结果计算:

1. 标准曲线方程: $y=11.114x-0.0008$, x 是标准品质量(mg), y 是 ΔA 。



2. 酶活定义: PH4.8条件下, 每克土壤每天分解木聚糖产生1mg还原糖所需的酶量为一个酶活单位。

$$\begin{aligned} \text{土壤半纤维素酶活力}(\text{mg/d/g 土样}) &= [(\Delta A + 0.0008) \div 11.114] \times (V2 \div V1) \div W \div T \div D \\ &= 8.1 \times (\Delta A + 0.0008) \div W \div D \end{aligned}$$

V1---显色反应中上清液体积, 40 μ L=0.04mL; V2---反应总体积, 900 μ L=0.9mL; T---反应时间, 1/4d;
W---土壤样本质量, g; 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(母液需在两天内用且-20°C保存)。
2. 把母液稀释成六个浓度梯度的标准品: 0,0.6,1.2,1.8,2.4,3.mg/mL。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
3. 在显色反应阶段, 按照测定管加样表操作, 依据结果即可制作标准曲线。



郑州乐业生物科技股份有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com

扫一扫 加微信