

## 土壤酸性木聚糖酶 (Soil Acidic Xylanase, S-ACX) 测定

### 试剂盒说明书

分光光度法 50 管/24 样

正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

#### 测定意义:

木聚糖酶(EC 3.2.1.8)主要由微生物产生,能催化水解木聚糖,也被称为戊聚糖酶或半纤维素酶,可分解酿造或饲料工业中的原料细胞壁以及 $\beta$ -葡聚糖,降低酿造中物料的粘度,促进有效物质的释放,以及降低饲料中的非淀粉多糖,促进营养物质的吸收利用,因而广泛的应用于酿造和饲料工业中,ACX 一般分离自耐酸的真菌,细菌及部分霉菌。

#### 测定原理:

ACX 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,可计算 ACX 活力。

#### 组成:

产品名称	SSQ096-50T/24S	Storage
缓冲液: 液体	20ml	4°C
试剂一: 液体	5ml	4°C避光
试剂二: 液体	25ml	4°C避光
说明书	一份	

试剂三: 粉剂 $\times$ 1 瓶, -20 °C保存, 用时加入 4ml 蒸馏水, 混匀, 用不完的试剂 4°C保存一周;

试剂四: 粉剂 $\times$ 1 瓶, 4 °C保存, 用时加入 4ml 蒸馏水, 混匀, 用不完的试剂 4°C保存一周;

#### 自备仪器和用品:

天平、常温离心机、震荡仪、恒温水浴锅, 可见分光光度计、1 ml 玻璃比色皿。

#### 样品处理:

新鲜土样风干, 过 30-50 目筛。

#### 测定操作表:



	对照管	测定管
土样 (g)	0.1	0.1
缓冲液 (μl)	600	400
试剂一 (μl)		200
混匀, 50°C震荡反应 30min, 立即 90°C水浴 10min, 8000g, 25°C离心 10min, 取上清 500μl		
试剂二 (μl)	500	500
混匀, 90°C水浴中显色 5min, 1ml 玻璃比色皿, 对照管调零, 测定 A <sub>540</sub> 。		

### S-ACX 计算公式:

标准曲线:  $y = 2.5554x - 0.002$ ,  $R^2 = 0.9983$

**酶活定义:** 50°C, pH4.8 条件下, 每克土壤每天分解木聚糖产生 1μmol 还原糖所需的酶量为一个酶活单位。

$$\begin{aligned} \text{S-ACX 活力 } (\mu\text{mol/d/g 土样}) &= (A_{540} + 0.002) \div 2.5554 \times V_{\text{反总}} \times 10^3 \div W \div T \div 150 \\ &= 75.14 \times (A_{540} + 0.002) \div W \end{aligned}$$

V 反总: 反应总体积, 0.6ml; T: 反应时间, 1/48d; 1000: 1mmol/L = 10<sup>3</sup>μmol/L; 150: 木糖分子量。

### 注意事项:

1. 保证震荡反应 30min, 使酶与底物充分接触。
2. 注意 90°C水浴防止爆开, 以免改变反应体系。

