

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

试剂盒说明书

微量法 100T/48S

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 β -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	SSQ097-100T/48S	Storage
缓冲液: 液体	10ml	4°C
试剂一: 液体	3ml	4°C避光
试剂二: 液体	10ml	4°C避光
说明书	一份	

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/酶标仪、微量石英比色皿/96 孔板。

样品处理:

新鲜土样风干,过 30-50 目筛。

测定操作表:

- 1、分光光度计/酶标仪预热 30min,调节波长至 540nm。
- 2、操作表



	对照管	测定管
土样 (g)	0.02	0.02
缓冲液 (μl)	150	100
试剂一 (μl)		50
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 100μl		
试剂二 (μl)	100	100
混匀, 90°C水浴中显色 5min, 取 180μl 于微量石英比色皿/96 孔板测定 540nm 处吸光值 A, 分别记为 A 对照管、A 测定管, $\Delta A = A \text{ 测定管} - A \text{ 对照管}$ 。		

S-ACX 计算公式:

a. 用微量石英比色皿测定的计算公式如下

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。

$$\begin{aligned} \text{S-ACX 活力 } (\mu\text{mol/d/g 土样}) &= (\Delta A + 0.002) \div 2.5554 \times V_{\text{反总}} \times 10^3 \div W \div T \div 150 \\ &= 18.78 \times (\Delta A + 0.002) \div W \end{aligned}$$

V 反总: 反应总体积, 0.15ml; T: 反应时间, 1/48d; 1000: 1mmol/L = 10³μmol/L; 150: 木糖分子量。

b. 用 96 孔板测定的计算公式如下

标准曲线: $y = 1.2777x - 0.002$, $R^2 = 0.9983$

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。

$$\begin{aligned} \text{S-ACX 活力 } (\mu\text{mol/d/g 土样}) &= (\Delta A + 0.002) \div 1.2777 \times V_{\text{反总}} \times 10^3 \div W \div T \div 150 \\ &= 37.56 \times (\Delta A + 0.002) \div W \end{aligned}$$

V 反总: 反应总体积, 0.15ml; T: 反应时间, 1/48d; 1000: 1mmol/L = 10³μmol/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。

