

土壤酸性木聚糖酶(S-ACX)试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
SMHD7-C24	土壤酸性木聚糖酶（S-ACX）试剂盒	24T	常量法
SMHD7-C48	土壤酸性木聚糖酶（S-ACX）试剂盒	48T	常量法

一、测定意义

木聚糖是植物半纤维素的主要成分，为自然界中广泛存在，含量仅次于纤维素的可再生多糖资源，占细胞干重的 7%-35%。木聚糖酶是一类可将木聚糖降解成低聚糖和木糖的复合酶系。内切方式降解木聚糖主链架的 β -1,4-木糖苷键，其水解产物主要是木二糖和木寡糖，少量的木糖和阿拉伯糖。

二、测定原理

以木聚糖为基质，在酸性条件，经土壤酸性木聚糖酶促基质水解为还原糖，还原糖与 3,5-二硝基水杨酸在沸水浴中反应生成棕红色的产物，颜色深度与还原糖量呈正相关，故可通过测定其吸光度值的来测定木聚糖酶的活力。

三、试剂组成

试剂名称	试剂装量	保存条件
试剂一	20mL×1 瓶	4℃ 保存
试剂二	粉剂×1 瓶	4℃ 保存
试剂二应用液的配制：每瓶粉剂中加入 20mL 蒸馏水，充分溶解，4℃ 保存		
试剂三	25mL×1 瓶	4℃ 保存
标准品粉剂	10mg×1 支	4℃ 保存
10mg/mL 标准品的配制：用时一支粉剂中加入 1mL 蒸馏水，混匀， 4℃ 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	基质管
土样（g）	0.1	0.1	-
试剂一（ μ L）	500	500	500
蒸馏水（ μ L）	-	500	-

试剂二 (μL)	500	-	500
----------	-----	---	-----

混匀，50℃孵育 30min 后，混匀，10000 转/min 常温离心 10min，取上清液备用。

2、显色反应：

	测定管	对照管	基质管	标准管
上清液 (μL)	100	100	100	-
不同浓度的标准品 (μL)	-	-	-	100
试剂三 (μL)	300	300	300	300
混匀，沸水浴 5min，流水冷却				
蒸馏水 (μL)	1000	1000	1000	1000

混匀，波长 540nm，1cm 光径，蒸馏水调零，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：在酸性条件下，每克每小时土壤中产生 1mg 还原糖为一个酶活力单位

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 (mg/mL)

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

T：反应时间，0.5h；

V_{反应}：反应体系总体积，1.0mL；

W：样本质量，0.1g。

六、注意事项

- 1、比色时，溶液呈现橙色，在 1h 内保持稳定。
- 2、不同土壤样本的木聚糖酶差异较大，先做预实验确认样本稀释倍数，一般条件下测定管需要 1-10 倍稀释，对照管和基质管无需稀释。
- 3、沸水浴时，应盖紧盖子，防止漏液。
- 4、标准曲线可用于参考，不同实验条件下，测定结果趋势不变，但数据值可能会存在一定的差异性。
- 5、若是称重的时候不能保证测定管和对照管重量固定，可将计算公式分解后带入计算。

附录 I：标准曲线的制备

1、前处理：

将 10mg/mL 的标准品用蒸馏水稀释成 0、0.2、0.4、0.6、0.8、1mg/mL 标准液进行标准曲线的制备。

2、操作表：

标准品浓度 (mg/mL)	0	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0
不同浓度标准品 (μL)	100	100	100	100	100	100
试剂三 (μL)	300	300	300	300	300	300
混匀，沸水浴 5min，流水冷却						
蒸馏水 (μL)	1000	1000	1000	1000	1000	1000

混匀，波长 540 nm，1cm 光径，蒸馏水调零，测定各管吸光度值。

3、测定结果：

标准品浓度 (mg/mL)	吸光度值	绝对吸光度值
0.0	0.036	0.000
0.2	0.176	0.140
0.4	0.367	0.331
0.6	0.565	0.529
0.8	0.760	0.724
1.0	0.933	0.897