

CheKine™ 土壤酸性木聚糖酶 (S-ACX) 活性检测试剂盒 (微量法)

Cat #: KTB4056

Size: 48 T/48 S 96 T/96 S

	土壤酸性木聚糖酶 (S-ACX) 活性检测试剂盒 (微量法)		
REF	货号: KTB4056	LOT	批号: 见产品标签
	检测范围: 0.4-2 μmol/mL		灵敏度: 0.4 μmol/mL
	适用样本: 土壤		
	保质期: 4°C, 避光保存 6 个月		

原理

木聚糖酶(EC3.2.1.8)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。CheKine™ 土壤酸性木聚糖酶 (S-ACX) 活性检测试剂盒 (微量法)提供了一种简单、方便、快速的酸性木聚糖酶活性检测方法,适用于土壤样本。其原理是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540 nm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540 nm吸光值增加速率,可计算ACX活力。

包装清单

试剂盒组分	规格		储存条件
	48 T	96 T	
Reagent I	18 mL	36 mL	4°C
Reagent II	3 mL	6 mL	4°C, 避光保存
Reagent III	13 mL	26 mL	4°C, 避光保存
Standard	Powder×1 vial	Powder×1 vial	4°C, 避光保存

注意: 正式检测前, 建议选择 2-3 个预期差异较大的样本进行预实验。

自备耗材

- 酶标仪或可见分光光度计 (能测 540 nm 处的吸光度)
- 96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头、1.5 mL 离心管
- 水浴锅、离心机、30-50 目筛
- 去离子水

试剂准备

Reagent I: 即用型；使用前，平衡到室温。4℃保存。

Reagent II: 即用型；使用前，平衡到室温。4℃避光保存。

Reagent III: 即用型；使用前，平衡到室温。4℃避光保存。

注意: **Reagent III** 有一定的刺激性，建议在使用过程中做好个人防护。

Standard: 临用前配制；加入 1 mL 去离子水，充分溶解，即 100 μmol/mL D-木糖标准品；用不完的试剂 4℃避光保存 1 个月。

10 μmol/mL D-木糖标准品: 取 120 μL 100 μmol/mL D-木糖标准品加 1,080 μL 去离子水配制成 10 μmol/mL D-木糖标准品；使用 10 μmol/mL D-木糖标准品，按照下表所示，进一步稀释标准品：

序号	Standard 体积 (μL)	去离子水体积 (μL)	浓度 (μmol/mL)
Std.1	200 μL of 10 μmol/mL Standard	800	2
Std.2	150 μL of 10 μmol/mL Standard	850	1.5
Std.3	120 μL of 10 μmol/mL Standard	880	1.2
Std.4	100 μL of 10 μmol/mL Standard	900	1
Std.5	80 μL of 10 μmol/mL Standard	920	0.8
Std.6	40 μL of 10 μmol/mL Standard	960	0.4

注意: 每次实验都要做一次标准品检测；稀释后的标准品溶液不稳定，必须在 4 小时内使用。

样本制备

注意: 推荐使用新鲜土壤样本。

新鲜土样自然风干或 37℃烘箱风干，过 30-50 目筛。

实验步骤

- 酶标仪或可见光分光光度计预热 30 min 以上，调节波长到 540 nm，可见光分光光度计用去离子水调零。
- 操作表（下述操作在 1.5 mL 离心管中操作）：

试剂	测定管	对照管	标准管	空白管
样本 (g)	0.02	0.02	0	0
Reagent I (μL)	100	150	0	0
Reagent II (μL)	50	0	0	0

混匀，50℃水浴 2 h 后，立即 90℃灭活 10 min。8,000 g，25℃离心 10 min，取上清液，下述操作在新的 1.5 mL 离心管中操作：

上清液 (μL)	100	100	0	0
Standard (μL)	0	0	100	0
去离子水 (μL)	0	0	0	100
Reagent III (μL)	100	100	100	100

- 混匀，90℃显色 5 min，流水冷却至室温，取 180 μL 至 96 孔板或微量玻璃比色皿中，记录 540 nm 处吸光值。测定管记为 A_{测定}，对照管记为 A_{对照}，标准管记为 A_{标准}，空白管记为 A_{空白}。计算 $\Delta A_{测定} = A_{测定} - A_{对照}$ ， $\Delta A_{标准} = A_{标准} - A_{空白}$ 。

注意: 空白孔和标准孔只需做 1-2 次，每个测定孔均需设置一个对照孔。实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如



果 $\Delta A_{\text{测定}}$ 小于 0.05 可适当加大样本量。如果 $\Delta A_{\text{测定}}$ 大于 2 $\mu\text{mol/mL}$ 的 $\Delta A_{\text{标准}}$ ，上清液可用去离子水进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数，或减少提取用样本量。

结果计算

注意：我们为您提供的计算公式，包括推导过程计算公式和简洁计算公式。两者完全相等。建议以加粗的简洁计算公式为最终计算公式。

1. 标准曲线的绘制

以标准溶液浓度为 x 轴， $\Delta A_{\text{标准}}$ 为 y 轴，绘制标准曲线，得到标准方程，将 $\Delta A_{\text{测定}}$ 带入方程得到 x ($\mu\text{mol/mL}$)。

2. S-ACX 活性的计算：

酶活单位定义：50℃，pH 4.8 条件下，每克土壤每小时分解木聚糖产生 1 μmol 还原糖所需的酶量为一个酶活单位。

$S\text{-ACX (U/g 土样)} = x \times V_{\text{反应}} \div W \div T \times F = 0.075 \times x \div W \times F$

$V_{\text{反应}}$ ：酶促反应体积，0.15 mL；T：反应时间，2 h； W：样本质量，g； F：稀释倍数。

结果展示

以下数据仅供参考，实验者需根据自己的实验对样品进行检测。

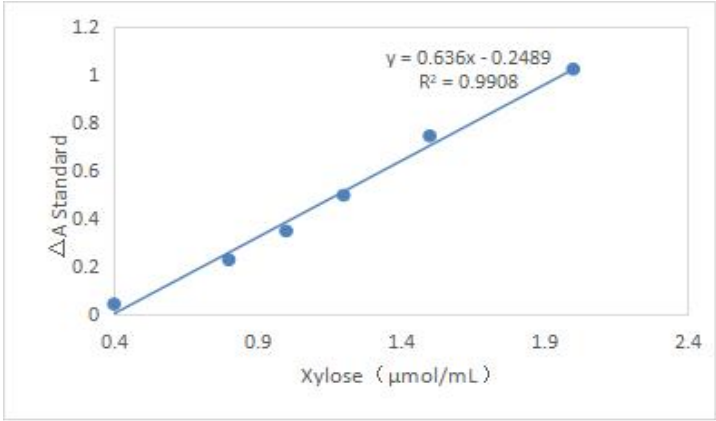


Figure 1. S-ACX 活性标准曲线

实验实例：

取 0.02 g 经 37℃烘箱风干后的新鲜土样，按上述步骤检测，稀释 5 倍后，使用 96 孔板测得计算 $\Delta A_{\text{测定}} = 0.797 - 0.076 = 0.721$ ，代入方程得 $x = 1.524$ ，按土样质量计算活性得：

$S\text{-ACX (U/g 土样)} = 0.075 \times 1.524 \div 0.02 \times 5 = 28.575 \text{ U/g}$ 。

相关产品

Catalog No.	Product Name
KTB4012	CheKine™ 土壤硝态氮含量检测试剂盒（微量法）
KTB4014	CheKine™ 土壤速效磷含量检测试剂盒（微量法）
KTB4041	CheKine™ 土壤碱性磷酸酶（S-AKP/ALP）活性检测试剂盒（微量法）
KTB4050	CheKine™ 土壤过氧化氢酶（S-CAT）活性检测试剂盒（微量法）

免责声明

本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

