

土壤中中性木聚糖酶（S-NEX）检测试剂盒（分光光度法）

注意：正式测定之前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定。

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，NEX 一般分离自最适生长 pH 为 6-8 的微生物。

测定原理：

NEX 在中性环境中催化木聚糖降解成还原性寡糖和单糖，在沸水浴条件下进一步与 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 NEX 活力。

试剂组成和配制：

缓冲液：液体 20mL×1 瓶，4℃ 保存。

试剂一：液体 5mL×1 瓶，4℃ 避光保存。

试剂二：液体 25mL×1 瓶，4℃ 避光保存。

样品处理：

新鲜土样风干，过 30-50 目筛。

测定步骤表:

	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℃震荡反应 30min, 立即 90℃水浴 10min, 8000g, 25℃离心 10min, 取上清 500μL		
试剂二 (μL)	500	500
混匀, 90℃水浴中显色 5min, 蒸馏水调零, 1mL 玻璃比色皿测定 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-NEX 计算公式:

标准曲线: $y = 1.6904x + 0.0058$, $R^2 = 0.9989$

酶活定义: 50℃, pH6.0 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。

$$\begin{aligned} \text{S-NEX 活力 } (\mu\text{mol/d/g 土样}) &= (\Delta A - 0.0058) \div 1.6904 \times V_{\text{反总}} \times 10^3 \div W \div T \div 150 \\ &= 113.58 \times (\Delta A - 0.0058) \div W \end{aligned}$$

V 反总: 反应总体积, 0.6mL;

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℃水浴防止爆开, 以免改变反应体系。