

## 土壤中性和木聚糖酶（S-NEX）活性检测试剂盒（微量法）

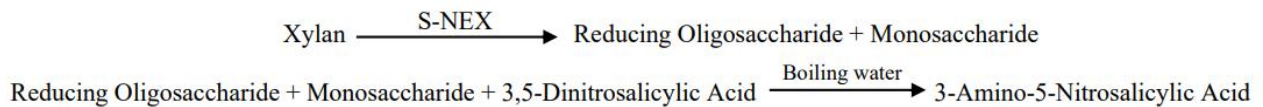
产品货号：BA2217

产品规格：100T/48S

### 产品简介：

土壤中性和木聚糖酶（Soil neutral xylanase, S-NEX），又称为土壤中性和半纤维素酶，主要分离自最适生长pH为6-8的微生物。

在中性环境中，S-NEX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S-NEX活性。



**注意：**实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

### 产品组成：

试剂名称	规格	保存条件
缓冲液	液体25mL×1瓶	2-8℃
试剂一	液体12mL×1瓶	2-8℃
试剂二	液体13mL×1支	2-8℃
标准品	粉剂×1支	2-8℃

### 溶液的配制：

1. 标准品：10mg木糖。临用前加入667μL蒸馏水配制成100μmol/mL的木糖标准液，2-8℃保存8周。

### 需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿/96孔板、天平、低温离心机、水浴锅、研钵、30~50目筛、蒸馏水。

### 操作步骤：

#### 一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

1. 新鲜土样自然风干或37℃烘箱风干，过30~50目筛。

#### 二、测定步骤

1. 可见分光光度计/酶标仪预热30min以上，调节波长至540nm，分光光度计用蒸馏水调零。
2. 标准品的稀释：临用前将标准品用蒸馏水稀释为2、1.5、1.2、1、0.8、0.4、0.2μmol/mL的标准溶液待测。
3. 标准品稀释表：

序号	稀释前浓度（μmol/mL）	标准品体积（μL）	蒸馏水体积（μL）	稀释后浓度（μmol/mL）
1	100	100	900	10
2	10	200	800	2
3	10	150	850	1.5
4	10	120	880	1.2
5	10	100	900	1



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

6	1	200	50	0.8
7	1	100	150	0.4
8	1	50	200	0.2

备注：实验中每管需要 150 $\mu$ L。

#### 4. 样本测定（在 EP 管中加入下列试剂）

试剂名称 ( $\mu$ L)	对照管	测定管	空白管	标准管
样本	0.05g	0.05g	-	-
缓冲液	200	200	-	-
试剂一	-	100	-	-
涡旋混匀，置于 50 $^{\circ}$ C 水浴锅中反应 2h，立即沸水浴中 10min 灭活。（注意不要让盖子爆开，以免进水，改变了反应体系），冷却至室温。				
试剂一	100	-	-	-
常温，12000g 离心 10min，取上清				
上清液	150	150	-	-
标准品	-	-	-	150
蒸馏水	-	-	150	-
试剂二	100	100	100	100
涡旋混匀，沸水浴中准确显色 5min(注意不要让盖子爆开，以免进水改变了反应体系)，冷却至室温后，吸取 200 $\mu$ L 于 96 孔板或微量玻璃比色皿中，测定各管 540nm 下的吸光度，分别记为 A 对照、A 测定、A 空白、A 标准。计算 $\Delta A$ 测定=A 测定-A 对照， $\Delta A$ 标准=A 标准-A 空白。空白管和标准曲线只需测 1-2 次。每个测定管需设一个对照管。				

### 三、S-NEX 计算公式

#### 1. 标准曲线的绘制：

根据标准管的浓度 ( $x$ ,  $\mu$ mol/mL) 和吸光度  $\Delta A$  标准 ( $y$ ,  $\Delta A$  标准)，建立标准曲线。根据标准曲线，将  $\Delta A$  测定 ( $y$ ,  $\Delta A$  测定) 带入公式计算样本浓度 ( $x$ ,  $\mu$ mol/mL)。

#### 2. 土壤 S-NEX 活性计算：

酶活定义：50 $^{\circ}$ C, pH 7.0 条件下，每克土壤每小时分解木聚糖产生 1 $\mu$ mol 还原糖所需的酶量为一个中性木聚糖酶的活性单位。

$$\text{S-NEX 活性 (U/g 土样)} = x \times \text{反总} \div W \div T \times F = 0.15 \times x \div W \times F$$

V 反总：反应体系总体积，0.3mL；W：样本质量，g；T：反应时间，2h；F：稀释倍数。

#### 注意事项：

- 若样本  $\Delta A < 0.01$ ，可适当增大样本量或者延长 50 $^{\circ}$ C 反应时间后测定；若样本  $\Delta A > 1.5$  或者 A 测定  $> 1.5$  时，可用蒸馏水稀释上清液后测定，注意同步修改计算公式中的稀释倍数。
- 建议使用螺旋管，防止沸水浴过程中盖子爆开，改变反应体系。



扫一扫 加微信

**郑州乐业生物科技有限公司**

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com