

酸性木聚糖酶(ACX)活性检测试剂盒

Acidic Xylanase Assay Kit

分光光度法

货号: AK156

规格: 50T/24S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
提取液-ES29	40ml×1 瓶	4℃保存
AK156-A	6ml×1 瓶	4℃避光保存
AK156-B	10ml×1 瓶	4℃避光保存
AK156-标准品	粉剂×1 支	4℃保存; 临用前加入 667μL 提取液配成 100μmol/mL 的标准品溶液, 2-8℃保存 8 周。

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

简介:

意义: 酸性木聚糖 (Acidic, ACX) (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。

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。

自备用品:

可见分光光度计、1 mL 玻璃比色皿、天平、低温离心机、恒温水浴锅、可调式移液枪、冰和蒸馏水。

粗酶液提取:

1. 发酵液: 发酵液于 8000g, 4℃, 离心 15min, 取上清, 作为待测样品。
2. 酶干粉: 称约 0.1mg, 加 1mL 提取液-ES29 溶解待测。

测定操作:

1. 分光光度计预热 30min, 调节波长到 540 nm, 蒸馏水调零。
2. 标准品稀释: 使用前将 100μmol/mL 标准液用缓冲液稀释 50 倍, 配制成 2μmol/mL 的标准液备用, 现用现配。
3. 在 1ml 玻璃比色皿中按顺序加入下列试剂:

	对照管 (ul)	测定管 (ul)	空白管 (ul)	标准管 (ul)
样品	200	200		
提取液-ES29	300	300	500	300
标准品				200
AK156-A		200	200	200
AK156-B	300			
混匀, 50℃水浴中反应 30min, 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)				
AK156-A	200			
AK156-B		300	300	300

混匀，沸水浴中显色 5min(注意不要让盖子爆开，以免进水改变了反应体系)，冷却后尽快测定各管 540nm 下的吸光度，分别记为 A 测定、A 对照、A 标准、A 空白。空白管和标准管只需做 1-2 次。

计算公式：

1. 发酵液 ACX 活力计算：

酶活定义：50℃，pH4.8 条件下，每毫升发酵液每分钟分解木聚糖产生 1μmol 还原糖所需的酶量为一个酸性木聚糖酶的活力单位。

$$\begin{aligned}\text{ACX 活力 (U/mL)} &= C \text{ 标准} \times (A \text{ 测定} - A \text{ 对照}) \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \div T \\ &= 0.067 \times (A \text{ 测定} - A \text{ 对照}) \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白})\end{aligned}$$

2. 酶干粉 ACX 活力计算：

酶活定义：50℃，pH4.8 条件下，每毫克酶每分钟分解木聚糖产生 1μmol 还原糖所需的酶量为一个酸性木聚糖酶的活力单位。

$$\begin{aligned}\text{ACX 活力 (U/mL)} &= C \text{ 标准} \times (A \text{ 测定} - A \text{ 对照}) \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \times V \text{ 提取} \div W1 \div T \\ &= 0.067 \times (A \text{ 测定} - A \text{ 对照}) \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \div W1\end{aligned}$$

注：C 标准：木糖标准溶液浓度，2μmol/mL；V 提取：加入缓冲液体积，1mL；W1：酶干粉重量，mg；T：反应时间，30min。

注意事项：

吸光度变化应该控制在 0.01~1.0 之间，否则加大样品量或稀释样品，注意计算公式中参与计算的稀释倍数要相应改变。