

酸性木聚糖酶(ACX)活性检测试剂盒

Acidic Xylanase Assay Kit

微量法

货号：AK157

规格：100T/48S

产品组成及保存条件：

编号	规格	储存条件
提取液 ES29	65ml×1 瓶	4°C保存
AK157-A	15ml×1 瓶	4°C避光保存
AK157-B	15ml×1 瓶	4°C避光保存
AK157-标准品	粉剂×1 支	4 °C 保存；临用前加入 667µL 提取液配成 100µmol/mL 的标准品溶液，2-8°C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/酶标仪、微量玻璃比色皿/96 孔板、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：

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

测定操作：

- 分光光度计预热 30min, 调节波长到 540 nm, 蒸馏水调零。
- 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。
- 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	60	60		
提取液-ES29	90	90	150	90
标准品				60
AK157-A		60	60	60
AK157-B	90			
混匀，50°C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)				
AK157-A	60			

AK157-B		90	90	90
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°C, 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°C, 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。