

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	65ml×1 瓶	4℃保存
AK156-A	10ml×1 瓶	4℃避光保存
AK156-B	15ml×1 瓶	4℃避光保存

※ 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:

天平、低温离心机、恒温水浴锅, 可见分光光度计、1 mL 玻璃比色皿和蒸馏水。

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 340 nm, 蒸馏水调零。
2. 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)
样品	200	200
提取液-ES29	300	300
AK156-A		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
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), 1mL 玻璃比色皿, 对照管调零, 测定 A540		

计算公式:

标准曲线: $y = 2.5554x - 0.002$, $R^2 = 0.9983$

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 1nmol 还原糖所需的酶量为一个酸性木聚糖酶的活力单位。

$$\begin{aligned} \text{ACX 活力 (nmol/min/mL)} &= (A_{540}+0.002) \div 2.5554 \div 150 \div 30 \times \text{稀释倍数} \times 1000 \\ &= 435 \times (A_{540}+0.002) \end{aligned}$$

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 1nmol 还原糖所需的酶量为 一个酸性木聚糖酶的活力单位。

$$\begin{aligned} \text{ACX 活力 (nmol/min/mL)} &= (A_{540}+0.002) \div 2.5554 \div 150 \div 30 \times \text{稀释倍数} \times 1000 \div W \\ &= 435 \times (A_{540}+0.002) \div W \end{aligned}$$

注: 计算公式中: 150: 木糖的分子量, 30: 反应时间, 5: 稀释倍数(1mL ÷ 0.2mL=5), 1000: 转化因子, 即 1mmol/L = 1000 μ mol/L, W: 样本质量, mg

注意事项:

1. 吸光度变化应该控制在 0.01~0.8 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。
2. 试剂盒 2-8°C保存, 保质期 3 个月, 建议尽快使用。