

酸性木聚糖酶活性检测试剂盒（可见分光光度法）

产品货号：BA1278

产品规格：50管/24样

产品简介：

木聚糖酶(EC3.2.1.8)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，酸性木聚糖（ACX）一般分离自耐酸的真菌，细菌及部分霉菌。

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。

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50mL×1瓶	4℃
试剂一	液体10mL×1瓶	4℃
试剂二	液体15mL×1瓶	4℃
试剂三	液体4mL×1瓶	4℃
标准品	粉剂×1支	4℃

溶液的配制：

标准品：10mg木糖。临用前加入667 μ L蒸馏水配成100 μ mol/mL的标准品溶液，再用水稀释50倍得到2 μ mol/mL的木糖标准液，备用。

需自备的仪器和用品：

天平、低温离心机、恒温水浴锅，可见分光光度计、1mL玻璃比色皿、研钵/匀浆器、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. 发酵液：发酵液于8000rpm，4℃，离心15min，取上清，作为待测样本。
2. 酶干粉：称约1mg，加1mL缓冲液溶解，蒸馏水稀释10倍待测。
3. 组织样本：称约0.1g组织，加入1mL缓冲液，冰上充分研磨。8000rpm，4℃，离心15min，取上清蒸馏水稀释10倍待测。

二、测定步骤

1. 可见分光光度预热 30min 以上，调节波长至 540nm，蒸馏水调零。
2. 样本测定：（在 EP 管中加入下列试剂）

试剂名称（ μ L）	对照管	测定管	空白管	标准管
样本	200	200	-	-
2 μ mol/mL 木糖标准品	-	-	-	200
蒸馏水	-	-	200	-
缓冲液	300	300	300	300
试剂一	-	200	200	200

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）



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

试剂一	200	-	-	-
试剂二	300	300	300	300
试剂三	100	100	100	100
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。				

三、ACX 活性计算

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 1 μ mol 还原糖所需的酶量为一个酸性木聚糖酶的活力单位。

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

C 标准: 木糖标准溶液浓度, 2 μ mol/mL; T: 反应时间, 30min。

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 1 μ mol 还原糖所需的酶量为一个酸性木聚糖酶的活力单位。

$$\begin{aligned} \text{ACX 活力 (U/mg)} &= 10 \times C \text{ 标准} \times (\text{A 测定} - \text{A 对照}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \times V \text{ 提取} \div W_1 \div T \\ &= 0.67 \times (\text{A 测定} - \text{A 对照}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \div W_1 \end{aligned}$$

10: 样本稀释倍数, 10 倍; C 标准: 木糖标准溶液浓度, 2 μ mol/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。

3. 组织中 ACX 活力计算:

(1) 按样本蛋白浓度计算:

酶活定义: 50℃, pH4.8 条件下, 每 mg 组织蛋白每分钟分解木聚糖产生 1 μ mol 还原糖所需的酶量为一个酸性木聚糖酶的活力单位。

$$\begin{aligned} \text{ACX 活力 (U/mg prot)} &= 10 \times C \text{ 标准} \times (\text{A 测定} - \text{A 对照}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \times V \text{ 样本} \div (V \text{ 样本} \times C_{pr}) \div T \\ &= 0.67 \times (\text{A 测定} - \text{A 对照}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \div C_{pr} \end{aligned}$$

(2) 按样本质量计算:

酶活定义: 50℃, pH4.8 条件下, 每克组织每分钟分解木聚糖产生 1 μ mol 还原糖所需的酶量为一个酸性木聚糖酶的活力单位。

$$\begin{aligned} \text{ACX 活力 (U/g 质量)} &= 10 \times C \text{ 标准} \times (\text{A 测定} - \text{A 对照}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \times V \text{ 提取} \div W_2 \div T \\ &= 0.67 \times (\text{A 测定} - \text{A 对照}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \div W_2 \end{aligned}$$

10: 样本稀释倍数, 10 倍; C 标准: 木糖标准溶液浓度, 2 μ mol/mL; V 提取: 加入缓冲液体积, 1mL; W₂: 样本质量, g; T: 反应时间, 30min; C_{pr}: 样本蛋白浓度, mg/mL; V 样本: 加入的样本量, 0.2mL。

注意事项:

吸光度变化应该控制在0.01~1.2之间, 否则加大样本量或稀释样本, 注意计算公式中参与计算的稀释倍数要相应改变。

实验实例:

1. 取0.1g草莓加入1mL缓冲液进行匀浆研磨, 取上清用蒸馏水稀释十倍后按照测定步骤操作, 测得A测定=0.911、A对照=0.863、A标准=0.709、A空白=0.345, 按样本质量计算酶活得:

$$\text{ACX活力 (U/g 质量)} = 0.67 \times (\text{A测定} - \text{A对照}) \div (\text{A标准} - \text{A空白}) \div W_2 = 0.8835 \text{ U/g 质量。}$$



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