

## 酸性木聚糖酶(ACX)活性检测试剂盒（微量法）

注意：正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

产品货号：BA1279

产品规格：100管/48样

### 产品简介：

木聚糖酶(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 $\beta$ -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，酸性木聚糖酶(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。

### 产品内容：

缓冲液：液体60mL×1瓶，4℃保存。

试剂一：液体7mL×1瓶，4℃避光保存。

试剂二：液体10mL×1瓶，4℃避光保存。

试剂三：液体4mL×1瓶，4℃保存。

标准品：粉剂×1支，4℃保存。10mg木糖，临用前加入667 $\mu$ L蒸馏水溶解，得到100 $\mu$ mol/mL木糖溶液，蒸馏水稀释50倍得到2 $\mu$ mol/mL木糖标准溶液。

### 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/酶标仪、微量玻璃比色皿/96孔板和蒸馏水。

### 操作步骤：

#### 一、粗酶液提取

- 1、发酵液：发酵液于8000rpm，4℃，离心15min，取上清，作为待测样品。
- 2、酶干粉：称约1mg，加1mL缓冲液溶解，蒸馏水稀释10倍待测。
- 3、组织样品：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、可见分光光度计/酶标仪预热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（ $\mu$ L）	对照管	测定管	空白管	标准管
样品	60	60		
2 $\mu$ mol/mL木糖标准品				60
蒸馏水			60	
缓冲液	90	90	90	90
试剂一		60	60	60

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



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719779

Q Q：807961520 731791866

邮箱：shsunbao@126.com

http://www.saint-bio.com

反应体系)				
试剂一	60			
试剂二	90	90	90	90
试剂三	30	30	30	30
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)，冷却后吸取200 $\mu$ L至96孔板或比色皿中，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 $^{\circ}$ C，pH4.8条件下，每毫升发酵液每分钟分解木聚糖产生1 $\mu$ mol还原糖所需的酶量为一个酸性木聚糖酶的活力单位。

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

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

#### 2、酶干粉ACX活力计算：

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

$$\text{ACX 活力 (U/mg)} = 10 \times \text{C标准} \times (\text{A测定} - \text{A对照}) \div (\text{A标准} - \text{A空白}) \times \text{V提取} \div \text{W1} \div \text{T} \\ = 0.67 \times (\text{A测定} - \text{A对照}) \div (\text{A标准} - \text{A空白}) \div \text{W1}$$

10：样本稀释倍数，10倍；C标准：木糖标准溶液浓度，2 $\mu$ 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) 按样品蛋白浓度计算：

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

$$\text{ACX 活力 (U/mg prot)} = 10 \times \text{C标准} \times (\text{A测定} - \text{A对照}) \div (\text{A标准} - \text{A空白}) \times \text{V样品} \div (\text{V样品} \times \text{Cpr}) \div \text{T} \\ = 0.67 \times (\text{A测定} - \text{A对照}) \div (\text{A标准} - \text{A空白}) \div \text{Cpr}$$

##### (2) 按样品鲜重计算：

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

$$\text{ACX 活力 (U/g 鲜重)} = 10 \times \text{C标准} \times (\text{A测定} - \text{A对照}) \div (\text{A标准} - \text{A空白}) \times \text{V提取} \div \text{W2} \div \text{T} \\ = 0.67 \times (\text{A测定} - \text{A对照}) \div (\text{A标准} - \text{A空白}) \div \text{W2}$$

10：样本稀释倍数，10倍；C标准：木糖标准溶液浓度，2 $\mu$ mol/mL；V提取：加入缓冲液体积，1mL；W2：样本鲜重，g；T：反应时间，30min；Cpr：样品蛋白浓度，mg/mL；V样品：加入的样品体积，0.06mL。

### 注意事项：

吸光度变化应该控制在0.01~1.5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。



扫一扫 加微信

**上海尚宝生物科技有限公司**

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719779

Q Q：807961520 731791866

邮箱：shsunbao@126.com

http://www.saint-bio.com