

使用说明书

Instruction Manual

酸性木聚糖(ACX)活性检测试剂盒（微量法） Acidic Xylanase Assay Kit (Microanalysis)

产品描述

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。

检测原理

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。

产品组成及储存条件

100T/48S 规格的产品组成如下：

组成	规格	储存条件
CB0011M-ES	液体 65mL×1 瓶	4°C保存
CB0011M-A	液体 10mL×1 瓶	4°C避光保存
CB0011M-B	液体 10mL×1 瓶	4°C避光保存

注：正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

操作说明

一、自备用品：

天平、低温离心机、恒温水浴锅，可见分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96 孔板和蒸馏水。

二、粗酶液提取：

1. 发酵液：发酵液于 8000g，4°C，离心 15min，取上清，作为待测样品。
2. 酶干粉：称约 0.1mg，加 1mL CB0011M-ES 溶解待测。

三、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. 在 EP 管中按顺序加入下列试剂：

	对照管 (μL)	测定管 (μL)
样品	60	60
CB0011M-ES	90	90
CB0011M-A		60
CB0011M-B	90	
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)		
CB0011M-A	60	
CB0011M-B		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)，取 200μL 于微量石英比色皿/96 孔板，对照管调零，测定 A540。		

四、计算公式：

a. 用微量石英比色皿测定的计算公式如下：

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℃，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。

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

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 1nmol 还原糖所需的酶量为一个酸性木聚糖酶的活力单位。

ACX 活力 (nmol/min/mg) = $(A_{540} + 0.002) \div 2.5554 \div 150 \div T \times \text{稀释倍数} \times 1000 \div W = 435 \times (A_{540} + 0.002) \div W$

注：计算公式中：150：木糖的分子量，30：反应时间，5：稀释倍数 (300μL ÷ 60μL = 5)，1000：转化因子，即 1mmol/L = 1000μmol/L，W：样本质量，mg

b 用 96 孔板测定的计算公式如下：

标准曲线： $y = 1.2777x - 0.002$ ， $R^2 = 0.9983$

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 1nmol 还原糖所需的酶量为一个酸性木聚糖酶的活力单位。

ACX 活力 (nmol/min/mL) = $(A_{540} + 0.002) \div 1.2777 \div 150 \div T \times \text{稀释倍数} \times 1000 = 870 \times (A_{540} + 0.002)$

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 1nmol 还原糖所需的酶量为一个酸性木聚糖酶的活力单位。

ACX 活力 (nmol/min/mg) = $(A_{540} + 0.002) \div 1.2777 \div 150 \div T \times \text{稀释倍数} \times 1000 \div W = 870 \times (A_{540} + 0.002) \div W$

注：计算公式中：150：木糖的分子量；T：反应时间，30min；稀释倍数 = V 反总 ÷ V 样 = 300μL ÷ 60μL = 5；1000：转化因子，即 1mmol/L = 1000μmol/L；W：样本质量，mg。

储存条件

试剂盒 2-8℃保存，保质期 3 个月，建议尽快使用。

■ 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. 本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品, 不得存放于普通住宅内。
3. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

