

酸性木聚糖酶(ACX)活性检测试剂盒（分光光度法）

Acidic Xylanase Assay Kit (Spectrophotometry)

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

50T/24S 规格的产品组成如下：

组成	规格	储存条件
CB0011S-ES	40mL×1 瓶	4℃保存。
CB0011S-A	6mL×1 瓶	4℃避光保存。
CB0011S-B	10mL×1 瓶	4℃避光保存。
CB0011S-Standard	粉剂×1 支	4℃保存；临用前加入 667 μ L 提取液配成 100 μ mol/mL 的标准品溶液，2-8℃保存 8 周。

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：

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿、天平、低温离心机、恒温水浴锅、可调式移液枪、冰和蒸馏水。

二、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 CB0011S-ES 溶解待测。

三、测定操作：

1. 分光光度计预热 30min，调节波长到 540nm，蒸馏水调零。
2. 标准品稀释：使用前将 100 μ mol/mL 标准液用缓冲液稀释 50 倍，配制成 2 μ mol/mL 的标准液备用，现用现配。
3. 在 1mL 玻璃比色皿中按顺序加入下列试剂：

	对照管 (μL)	测定管 (μL)	空白管 (μL)	标准管 (μL)
样品	200	200		
CB0011S-ES	300	300	500	300
标准品				200
CB0011S-A		200	200	200
CB0011S-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)。				
CB0011S-A	200			
CB0011S-B		300	300	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)，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。				

四、计算公式：

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 1μmol 还原糖所需的酶量为一个酸性木聚糖酶的活力单位。

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

$$= 0.067 \times (A \text{ 测定} - A \text{ 对照}) \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白})$$

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 1μmol 还原糖所需的酶量为一个酸性木聚糖酶的活力单位。

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

$$= 0.067 \times (A \text{ 测定} - A \text{ 对照}) \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \div W1$$

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

1. 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。
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。

