上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话：021-61312973　传真：021-55068248
网址：www.shyuanye.com
邮箱：shyysw@sina.com

酸性木聚糖酶活性检测试剂盒(微量法)

货号： R41851

规格： 100T/96S

保质期：3个月

产品组成及保存条件：

编号	规格	储存条件
试剂-ES29	液体65ml×1瓶	2-8℃保存
试剂-A	液体10ml×1瓶	2-8℃避光保存
试剂-B	液体10ml×1瓶	2-8℃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/酶标仪、微量石英比色皿/96 孔板和蒸馏水。

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 ES29 溶解待测。

测定步骤：

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(ul)	测定管(ul)
样品	60	60
试剂-ES29	90	90
试剂-A		60
试剂-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)		
试剂-A	60	
试剂-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200ul于微量石英比色皿/96孔板，对照管调零，测定A540		

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) = (A540+0.002)÷2.5554÷150÷T×稀释倍数×1000=435×(A540+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/mL) = (A540+0.002)÷2.5554÷150÷T×稀释倍数×1000÷W=435×(A540+0.002)÷W

注： 计算公式中：150：木糖的分子量，30：反应时间，5：稀释倍数（300ul ÷60ul=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) = (A540+0.002)÷1.2777÷150÷T×稀释倍数×1000= 870×(A540+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) =(A540+0.002)÷1.2777÷150÷T×稀释倍数×1000÷W= 870×(A540+0.002) ÷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。

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℃保存，保质期 3 个月，建议尽快使用。