

酸性木聚糖(ACX)活性检测试剂盒

Acidic Xylanase Assay Kit

微量法

货号: AK157

规格: 100T/48S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
AK157-ES29	液体 65ml×1 瓶	4℃保存
AK157-A	液体 10ml×1 瓶	4℃避光保存
AK157-B	液体 10ml×1 瓶	4℃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 AK157-ES29 溶解待测。

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 (ul)	测定管 (ul)
样品	60	60
AK157-ES29	90	90
AK157-A		60
AK157-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)		
AK157-A	60	
AK157-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 A ₅₄₀		

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°C, 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。

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

2. 酶干粉 ACX 活力计算:

酶活定义: 50°C, 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。

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

注: 计算公式中: 150: 木糖的分子量, 30: 反应时间, 5: 稀释倍数 (300ul ÷ 60ul=5), 1000: 转化因子, 即 1mmol/L = 1000 μ mol/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°C, 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。

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

2. 酶干粉 ACX 活力计算:

酶活定义: 50°C, 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。

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

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 = 1000 μ mol/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°C 保存, 保质期 3 个月, 建议尽快使用。