

酸性木聚糖酶活性检测试剂盒（可见分光光度法）

产品货号：BA1278

产品规格：50管/24样

产品简介：

木聚糖酶(EC3.2.1.8)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，酸性木聚糖（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。

注意：实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

产品组成：

试剂名称	规格	保存条件
缓冲液	液体50mL×1瓶	4℃
试剂一	液体10mL×1瓶	4℃
试剂二	液体15mL×1瓶	4℃
试剂三	液体4mL×1瓶	4℃
标准品	粉剂×1支	4℃

溶液的配制：

标准品：10mg木糖。临用前加入667 μ L蒸馏水配成100 μ mol/mL的标准品溶液，再用水稀释50倍得到2 μ mol/mL的木糖标准液，备用。

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、1mL玻璃比色皿、研钵/匀浆器、蒸馏水。

操作步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

1. 发酵液：发酵液于8000rpm，4℃，离心15min，取上清，作为待测样本。
2. 酶干粉：称约1mg，加1mL缓冲液溶解，蒸馏水稀释10倍待测。
3. 组织样本：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（ μ L）	对照管	测定管	空白管	标准管
样本	200	200	-	-
2 μ mol/mL 木糖标准品	-	-	-	200
蒸馏水	-	-	200	-
缓冲液	300	300	300	300
试剂一	-	200	200	200



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

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

混匀，50°C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）				
试剂一	200	-	-	-
试剂二	300	300	300	300
试剂三	100	100	100	100
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。				

三、ACX 活性计算

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 1 μ mol 还原糖所需的酶量为一个酸性木聚糖酶的活力单位。

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

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

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 1 μ mol 还原糖所需的酶量为一个酸性木聚糖酶的活力单位。

$$\begin{aligned} \text{ACX 活力 (U/mg)} &= 10 \times C \text{ 标准} \times (\text{A 测定} - \text{A 对照}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \times V \text{ 提取} \div W_1 \div T \\ &= 0.67 \times (\text{A 测定} - \text{A 对照}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \div W_1 \end{aligned}$$

10：样本稀释倍数，10 倍；C 标准：木糖标准溶液浓度，2 μ 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) 按样本蛋白浓度计算：

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

$$\begin{aligned} \text{ACX 活力 (U/mg prot)} &= 10 \times C \text{ 标准} \times (\text{A 测定} - \text{A 对照}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \times V \text{ 样本} \div (V \text{ 样本} \times C_{pr}) \div T \\ &= 0.67 \times (\text{A 测定} - \text{A 对照}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \div C_{pr} \end{aligned}$$

(2) 按样本质量计算：

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

$$\begin{aligned} \text{ACX 活力 (U/g 质量)} &= 10 \times C \text{ 标准} \times (\text{A 测定} - \text{A 对照}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \times V \text{ 提取} \div W_2 \div T \\ &= 0.67 \times (\text{A 测定} - \text{A 对照}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \div W_2 \end{aligned}$$

10：样本稀释倍数，10 倍；C 标准：木糖标准溶液浓度，2 μ mol/mL；V 提取：加入缓冲液体积，1mL；W₂：样本质量，g；T：反应时间，30min；C_{pr}：样本蛋白浓度，mg/mL；V 样本：加入的样本量，0.2mL。

注意事项：

吸光度变化应该控制在 0.01~1.2 之间，否则加大样本量或稀释样本，注意计算公式中参与计算的稀释倍数要相应改变。

实验实例：

1. 取 0.1g 草莓加入 1mL 缓冲液进行匀浆研磨，取上清用蒸馏水稀释十倍后按照测定步骤操作，测得 A 测定 = 0.911、A 对照 = 0.863、A 标准 = 0.709、A 空白 = 0.345，按样本质量计算酶活得：

$$\text{ACX 活力 (U/g 质量)} = 0.67 \times (\text{A 测定} - \text{A 对照}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \div W_2 = 0.8835 \text{ U/g 质量。}$$



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

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com