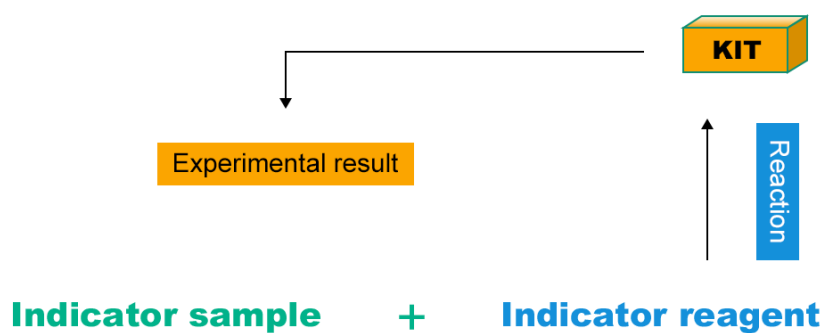


上海茁彩生物科技有限公司
ZCIBIO Technology Co., Ltd



生化检测原理示意图

Cat. NO: ZC-S0712

Size: 50T/24S

酸性木聚糖酶检测试剂盒说明书

可见分光光度法

*正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

一、测定意义：

木聚糖酶(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，酸性木聚糖酶(ACX)一般分离自耐酸的真菌，细菌及部分霉菌。

二、测定原理：

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。

三、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 玻璃比色皿和蒸馏水。

四、试剂的组成和配置：

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
缓冲液	液体 50mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	液体 10mL×1 瓶	4℃避光保存	
试剂二	液体 15mL×1 瓶	4℃避光保存	
试剂三	液体 5mL×1 瓶	4℃保存	

标准品	粉剂×1 支	4℃保存	10mg 木糖，临用前加入 667μL 蒸馏水溶解，得到 100μmol/mL。木糖溶液，蒸馏水稀释 50 倍得到 2μmol/mL 木糖标准溶液
-----	--------	------	---

五、操作步骤：

● 粗酶液提取

1. 发酵液：发酵液于 8000rpm，4℃，离心 15min，取上清，作为待测样品。
2. 酶干粉：称约 1mg，加 1mL 缓冲液溶解，蒸馏水稀释 10 倍待测。
3. 组织样品：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。

● 测定步骤

- 1、可见分光光度计预热 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 (μL)	对照管	测定管	空白管	标准管
样品	200	200	—	—
2μmol/mL 木糖标准品	—	—	—	200
蒸馏水	—	—	200	—
缓冲液	300	300	300	300
试剂一	—	200	200	200
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。

六、ACX 活性计算：

(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。

ACX 活力 (U/mL) = C 标准 × (A 测定 - A 对照) ÷ (A 标准 - A 空白) ÷ T = 0.067 × (A 测定 - A 对照) ÷ (A 标准 - A 空白)

C 标准：木糖标准溶液浓度，2μmol/mL；T：反应时间，30min。

(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。

ACX 活力 (U/mg) = 10 × C 标准 × (A 测定 - A 对照) ÷ (A 标准 - A 空白) × V 提取 ÷ W₁ ÷ T = 0.67 × (A 测定 - A 对照) ÷ (A 标准 - A 空白) ÷ W₁

10：样本稀释倍数，10 倍；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。

(3) 组织中 ACX 活力计算：

● 按样品蛋白浓度计算：

酶活定义：50℃，pH 4.8 条件下，每 mg 组织蛋白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。

ACX 活力 (U/mg prot) = 10 × C 标准 × (A 测定 - A 对照) ÷ (A 标准 - A 空白) × V 样品 ÷ (V 样品 × C_{pr}) ÷ T = 0.67 × (A 测定 - A 对照) ÷ (A 标准 - A 空白) ÷ C_{pr}

● 按样品鲜重计算：

酶活定义：50℃，pH4.8 条件下，每克组织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。

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

10: 样本稀释倍数, 10 倍; C 标准: 木糖标准溶液浓度, $2\mu\text{mol/mL}$; V 提取: 加入缓冲液体积, 1mL; W_2 : 样本鲜重, g; T: 反应时间, 30min; Cpr: 样品蛋白浓度, mg/mL; V 样品: 加入的样品量, 0.2mL。

七、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。