

中性木聚糖酶活性检测试剂盒（可见分光光度法）

产品货号：BA1519

产品规格：50管/24样

产品说明：

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，中性木聚糖酶（NEX）一般分离自最适生长pH为6-8的微生物。NEX在中性环境中催化木聚糖降解成还原性寡糖和单糖，在沸水浴条件下进一步与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NEX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支	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：

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

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. 细胞或微生物样本发酵液的制备：发酵液于8000rpm，4℃离心15min，取上清，置于冰上待测。
2. 组织：称取约0.1g组织，加入1mL缓冲液，冰上充分研磨。8000g，4℃离心15min，取上清，置冰上待测。
3. 酶干粉：称约1mg，加缓冲液1mL，震荡充分溶解。

二、测定步骤

1. 分光光度计预热30min以上，调节波长至540nm，蒸馏水调零。
2. 将上清液/酶溶液用蒸馏水稀释十倍后置冰上待测。
3. 样本测定：

试剂名称（ μ L）	对照管	测定管	标准管	空白管
样本	200	200	-	-
标准溶液	-	-	200	-
蒸馏水	-	-	-	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

缓冲液	300	300	300	300
试剂一	-	200	200	200
混匀，盖紧瓶盖，50℃水浴，反应30min，立即沸水浴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
混匀，沸水浴显色5min (注意不要让盖子爆开，以免进水改变了反应体系)，冰浴冷却后尽快测量540nm波长下的吸光值A对照管、A测定管、A标准管、A空白管，计算 $\Delta A_{测定} = A_{测定管} - A_{对照管}$ ， $\Delta A_{标准} = A_{标准管} - A_{空白管}$ 。				

三、NEX计算公式

1. 发酵液NEX活力计算:

酶活定义: 50℃, pH6.0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中性木聚糖酶的活力单位。

$$\text{NEX活力 (U/mL)} = [\Delta A_{测定} \div (\Delta A_{标准} \div C_{标准})] \div T = 0.067 \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准}$$

2. 酶干粉NEX活力计算:

酶活定义: 50℃, pH6.0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中性木聚糖酶的活力单位。

$$\begin{aligned} \text{NEX活力 (U/mg)} &= [\Delta A_{测定} \div (\Delta A_{标准} \div C_{标准})] \times V_{样本} \times 10 \div (V_{样本} \times W_{酶} \div V_{提取}) \div T \\ &= 0.67 \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \div W_{酶} \end{aligned}$$

3. 组织中NEX活力的计算:

(1) 按样本蛋白浓度计算:

酶活定义: 50℃, pH6.0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中性木聚糖酶的活力单位。

$$\begin{aligned} \text{NEX活力 (U/mg prot)} &= [\Delta A_{测定} \div (\Delta A_{标准} \div C_{标准})] \times V_{样本} \times 10 \div (V_{样本} \times C_{pr}) \div T \\ &= 0.67 \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \div C_{pr} \end{aligned}$$

(2) 按样本质量计算:

酶活定义: 50℃, pH6.0条件下, 每g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中性木聚糖酶的活力单位。

$$\begin{aligned} \text{NEX活力 (U/g质量)} &= [\Delta A_{测定} \div (\Delta A_{标准} \div C_{标准})] \times V_{样本} \times 10 \div (V_{样本} \times W \div V_{提取}) \div T \\ &= 0.67 \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \div W \end{aligned}$$

C标准: 木糖标准溶液, 2 μ mol/mL; V样本: 加入的样本体积, 0.2mL; W酶: 酶干粉的质量, mg; T: 反应时间, 30min; Cpr: 样本蛋白浓度, mg/mL; W: 组织样本质量, g; V提取: 提取液体积, 1mL; 10: 样本稀释倍数。

注意事项:

吸光度变化应该控制在0.01~1.5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; 也可以延长或者缩短反应时间。



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