

碱性木聚糖酶/碱性半纤维素酶活性检测试剂盒 (分光光度计法)  
(本试剂盒仅供科研使用)

### 产品包装

产品编号	产品名称	产品规格
YFX0565	碱性木聚糖酶/碱性半纤维素酶活性检测试剂盒	50 管/24 样

### 产品内容

名称	规格	储存条件
缓冲液	液体 65mL × 1 瓶	4℃
试剂一	液体 10mL × 1 瓶 (若出现白色絮状或颗粒状沉淀, 可 60℃ 加热溶解后使用)	4℃, 避光
试剂二	液体 15mL × 1 瓶	4℃, 避光

### 一、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碱的原料细胞壁以及 $\beta$ -葡聚糖, 降低酿造碱物料的粘度, 促进有效物质的释放, 以及降低饲料碱的非淀粉多糖, 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碱, BAX 一般分离自最适生长 pH 为 9+11 的微生物。

BAX 在碱性环境碱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 BAX 活力。

### 二、自备材料

天平、低温离心机、恒温水浴锅, 可见分光光度计、1 mL 玻璃比色皿和蒸馏水。

### 三、样品制备

- 1、发酵液: 发酵液于 8000g, 4℃, 离心 15min, 取上清, 作为待测样。
- 2、酶干粉: 称约 0.1mg, 加 1mL 缓冲液溶解待测。
- 3、组织样本: 按照组织质量 (g) : 提取液体积(mL)为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g 组织, 加入 1mL 缓冲液) 进行冰浴匀浆, 然后 8000g, 4℃, 离心 10min, 取上清待测。

### 四、操作步骤

**正式测定前, 必需取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。**

- 1、分光光度计预热 30min 以上, 调节波长至 540nm。
- 2、操作表:

试剂名称 ( $\mu$ L)	对照管	测定管
样本	200	200
缓冲液	300	300
试剂一		200
试剂二	300	

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

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), 1mL 玻璃比色皿, 540nm 处测定吸光值 A, 计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ 。每个测定管设一个对照管。

## 五、酶活的计算

标准曲线:  $y = 2.8432x - 0.0293$ ,  $R^2 = 0.9985$ 。

1、按照样本蛋白浓度计算:

酶活定义: 50°C, pH9.0 条件下, 每毫克蛋白每分钟分解木聚糖产生 1nmol 还原糖所需的酶量为一个碱性木聚糖酶的活力单位。

$$\text{BAX 活力 (nmol/min/mg prot)} = (\Delta A + 0.0293) \div 2.8432 \div 150 \div T \times \text{稀释倍数} \times 10^6 \div \text{Cpr}$$
$$= 391 \times (\Delta A + 0.0293) \div \text{Cpr}$$

2、按照样本鲜重计算:

酶活定义: 50°C, pH9.0 条件下, 每克样本每分钟分解木聚糖产生 1nmol 还原糖所需的酶量为一个碱性木聚糖酶的活力单位。

$$\text{BAX 活力 (nmol/min/g 鲜重)} = (\Delta A + 0.0293) \div 2.8432 \div 150 \div T \times \text{稀释倍数} \times 10^6 \div W$$
$$= 391 \times (\Delta A + 0.0293) \div W$$

3、按照液体体积计算:

酶活定义: 50°C, pH9.0 条件下, 每毫升液体样本每分钟分解木聚糖产生 1nmol 还原糖所需的酶量为一个碱性木聚糖酶的活力单位。

$$\text{BAX 活力 (nmol/min/mL)} = (\Delta A + 0.0293) \div 2.8432 \div 150 \div T \times \text{稀释倍数} \times 10^6$$
$$= 391 \times (\Delta A + 0.0293)$$

150: 木糖的分子量; T: 反应时间, 30min; 稀释倍数 =  $V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} = 1000\mu\text{L} \div 200\mu\text{L} = 5$ ;

$10^6$ : 转化因子, 即  $1\text{mg/mL} = 10^6\text{ng/mL}$ ; Cpr: 样本蛋白浓度, mg/mL; W: 样本质量, g。

## 六、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; 也可以延长或者缩短反应时间。

2、试剂盒 2-8°C 保存, 保质期 3 个月, 建议尽快使用。