

中性木聚糖酶活性检测试剂盒（微量法）

正式测定前务必取2-3个预期差异较大的样本做预测定。

产品货号：BA1520

产品规格：100管/48样

产品内容：

缓冲液：液体60mL×1瓶，4℃保存。

试剂一：液体5mL×1瓶，4℃避光保存。

试剂二：液体8mL×1瓶，4℃避光保存

标准品：粉剂×1支，10mg木糖，临用前加入667 μL蒸馏水配成100 μmol/mL 的标品溶液，再稀释25倍即得 4 μmol/mL的木糖标准溶液，备用。

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。

需自备的仪器和用品：

低温离心机、可见分光光度计/酶标仪、水浴锅、微量玻璃比色皿/96孔板、可调式移液枪、研钵/匀浆器、冰和蒸馏水。

操作步骤：

一、粗酶液提取：

1、细胞或微生物样品发酵液的制备：

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、可见分光光度计/酶标仪预热30min以上，调节波长至540nm，蒸馏水调零。

2、将组织上清液/酶溶液用蒸馏水稀释十倍后置冰上待测。

3、操作表：

| 试剂名称 (uL) | 对照管 | 测定管 | 标准管 | 空白管 |
|-----------|-----|-----|-----|-----|
| 样本 | 50 | 50 | | |
| 标准溶液 | | | 50 | |



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

| | | | | |
|--|----|----|----|----|
| 蒸馏水 | | | | 50 |
| 缓冲液 | 75 | 75 | 75 | 75 |
| 试剂一 | | 50 | 50 | 50 |
| 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 | 50 | | | |
| 试剂二 | 75 | 75 | 75 | 75 |
| 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)，冰浴冷却后吸取200 μL至96孔板/比色皿中，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 ΔA测定=A测定管-A对照管， ΔA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℃，pH 6.0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中性木聚糖酶的活力单位。

$$\text{NEX 活力 (U/mL)} = [\Delta A_{\text{测定}} \div (\Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{标准}})] \div T = 0.13 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}}$$

2. 酶干粉NEX活力计算：

酶活定义：50℃，pH 6.0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中性木聚糖酶的活力单位。

$$\begin{aligned} \text{NEX 活力 (U/mg)} &= [\Delta A_{\text{测定}} \div (\Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{标准}})] \times V_{\text{样品}} \times 10 \div (V_{\text{样品}} \times W_{\text{酶}} \div V_{\text{提取}}) \div T \\ &= 1.33 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W_{\text{酶}} \end{aligned}$$

3. 组织中 NEX 活力的计算：

(1) 按样品蛋白浓度计算：

酶活定义：50℃，pH 6.0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中性木聚糖酶的活力单位。

$$\begin{aligned} \text{NEX 活力 (U/mg prot)} &= [\Delta A_{\text{测定}} \div (\Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{标准}})] \times V_{\text{样品}} \times 10 \div (V_{\text{样品}} \times C_{\text{pr}}) \div T \\ &= 1.33 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{pr}} \end{aligned}$$

(2) 按样品鲜重计算：

酶活定义：50℃，pH 6.0条件下，每g组织每分钟分解木聚糖产生1μmol还原糖所需的酶量为一个中性木聚糖酶的活力单位。

$$\begin{aligned} \text{NEX活力 (U/g 鲜重)} &= [\Delta A_{\text{测定}} \div (\Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{标准}})] \times V_{\text{样品}} \times 10 \div (V_{\text{样品}} \times W \div V_{\text{提取}}) \div T \\ &= 1.33 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W \end{aligned}$$

C标准：木糖标准溶液，4μmol/mL；V样品：加入的样品体积，0.05mL；W 酶：酶干粉的质量，mg；T：反应时间，30min；Cpr：样品蛋白浓度，mg/mL；W：组织样品鲜重，g；V 提取：提取液体积，1mL；10：样品稀释倍数。

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。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com