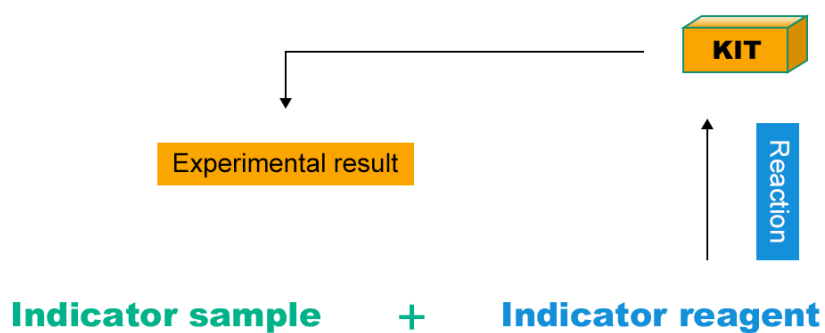


上海茁彩生物科技有限公司  
ZCIBIO Technology Co., Ltd



生化检测原理示意图

Cat. NO: ZC-S0435

Size: 100T/48S

## 碱性木聚糖酶检测试剂盒说明书

### 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

#### 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 $\beta$ -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，BAX 一般分离自最适生长 pH 为 9-11 的微生物。

#### 二、测定原理：

BAX 在碱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 BAX 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/酶标仪、微量石英比色皿/96 孔板和蒸馏水。

#### 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 65mL×1 瓶 | 4℃保存   |           |
| 试剂一 | 液体 10mL×1 瓶 | 4℃避光保存 |           |
| 试剂二 | 液体 10mL×1 瓶 | 4℃避光保存 |           |

## 五、粗酶提取：

1. 发酵液：发酵液于 8000g，4℃，离心 15min，取上清，作为待测样品。
2. 酶干粉：称约 0.1mg，加缓冲液 1mL，震荡溶解待测。

## 六、测定操作表：

1. 分光光度计/酶标仪预热 30min，调节波长至 540nm。

### 2. 操作表

|                                                                | 对照管 | 测定管 |
|----------------------------------------------------------------|-----|-----|
| 样品 (μL)                                                        | 60  | 60  |
| 缓冲液 (μL)                                                       | 90  | 90  |
| 试剂一 (μL)                                                       |     | 60  |
| 试剂二 (μL)                                                       | 90  |     |
| 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 (μL)                                                       | 60  |     |
| 试剂二 (μL)                                                       |     | 90  |
| 混匀，沸水浴显色 5min，取 200μL 于微量石英比色皿/96 孔板中，对照管调零，测定 A 540。          |     |     |

## 七、BAX 计算公式：

- 用微量石英比色皿测定的计算公式如下

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

### 1. 发酵液 BAX 活力计算

酶活定义：50℃，pH9.0 条件下，每毫升发酵液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。

$$\text{BAX 活力 (nmol/min/mL)} = (A_{540} + 0.0293) \div 2.8432 \div 150 \div T \times \text{稀释倍数} \times 1000 = 391 \times (A_{540} + 0.0293)$$

## 2. 酶干粉 BAX 活力计算

酶活定义：50℃，pH9.0 条件下，每毫克酶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。

$$\text{BAX 活力 (nmol/min/mg)} = (A_{540} + 0.0293) \div 2.8432 \div 150 \div T \times \text{稀释倍数} \times 1000 \div W$$

$$= 391 \times (A_{540} + 0.0293) \div W$$

150：木糖的分子量；T：反应时间，30min；稀释倍数=V 反总÷V 样=300μL÷60μL=5；

1000：转化因子，即 1mmol/L=1000 μ mol/L；W：样品质量：mg

### ● 用 96 孔板测定的计算公式如下

$$\text{标准曲线: } y = 1.4216x - 0.0293, R^2 = 0.9985$$

## 1. 发酵液 BAX 活力计算

酶活定义：50℃，pH9.0 条件下，每毫升发酵液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。

$$\text{BAX 活力 (nmol/min/mL)} = (A_{540} + 0.0293) \div 1.4216 \div 150 \div T \times \text{稀释倍数} \times 1000$$

$$= 782 \times (A_{540} + 0.0293)$$

## 2. 酶干粉 BAX 活力计算

酶活定义：50℃，pH9.0 条件下，每毫克酶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。

$$\text{BAX 活力 (nmol/min/mg)} = (A_{540} + 0.0293 \div 1.4216 \div 150 \div T \times \text{稀释倍数} \times 1000 \div W$$

$$= 782 \times (A_{540} + 0.0293) \div W$$

150：木糖的分子量；T：反应时间，30min；稀释倍数=V 反总÷V 样=300μL÷60μL=5；

1000：转化因子，即 1mmol/L=1000 μ mol/L；W：样品质量：mg

#### 八、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℃保存，保质期 3 个月，建议尽快使用。