

碱性木聚糖酶（BAX）活性检测试剂盒（可见分光光度法）

注意：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：BA1170

产品规格：50管/24样

产品简介：

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，碱性木聚糖酶（BAX）一般分离自最适生长pH为9-11的微生物。

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。

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。

产品内容：

试剂名称	规格	保存条件
缓冲液	液体50mL×1瓶	2-8℃
试剂一	液体10mL×1瓶	2-8℃
试剂二	液体15mL×1瓶	2-8℃
标准品	粉剂×1支	2-8℃

溶液的配制：

1. 标准品：10mg木糖，临用前加入667 μ L蒸馏水配制成100 μ mol/mL的木糖标准液。

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

二、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. 2 μ mol/mL木糖标准品的制备：将标准品用蒸馏水稀释50倍即2 μ mol/mL的木糖标准溶液备用。
3. 样本测定（在EP管中加入下列试剂）

试剂名称（ μ L）	对照管	测定管	空白管	标准管
----------------	-----	-----	-----	-----



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

样本	200	200	-	-
2 μ mol/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 $^{\circ}$ C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
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。				

三、BAX活性计算：

1. 发酵液BAX活力计算：

酶活定义50 $^{\circ}$ C，pH 9.0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碱性木聚糖酶的活力单位。

$$\begin{aligned} \text{BAX活力 (U/mL)} &= \text{C标准} \times (\text{A测定} - \text{A对照}) \div (\text{A标准} - \text{A空白}) \div \text{T} \\ &= 0.067 \times (\text{A测定} - \text{A对照}) \div (\text{A标准} - \text{A空白}) \end{aligned}$$

C标准：木糖标准溶液浓度，2 μ mol/mL； T：反应时间，30min。

2. 酶干粉BAX活力计算：

酶活定义：50 $^{\circ}$ C，pH9.0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碱性木聚糖酶的活力单位。

$$\begin{aligned} \text{BAX活力 (U/mg)} &= 10 \times \text{C标准} \times (\text{A测定} - \text{A对照}) \div (\text{A标准} - \text{A空白}) \times \text{V提取} \div \text{W1} \div \text{T} \\ &= 0.67 \times (\text{A测定} - \text{A对照}) \div (\text{A标准} - \text{A空白}) \div \text{W1} \end{aligned}$$

10：样本稀释倍数，10倍； C标准：木糖标准溶液浓度，2 μ mol/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BAX活力计算：

(1) 按样本蛋白浓度计算：

酶活定义：50 $^{\circ}$ C，pH 9.0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碱性木聚糖酶的活力单位。

$$\begin{aligned} \text{ACX活力 (U/mg prot)} &= 10 \times \text{C标准} \times (\text{A测定} - \text{A对照}) \div (\text{A标准} - \text{A空白}) \times \text{V样品} \div (\text{V样品} \times \text{Cpr}) \div \text{T} \\ &= 0.67 \times \Delta \text{A测定} \div \Delta \text{A标准} \div \text{Cpr} \end{aligned}$$

(2) 按样本质量计算：

酶活定义：50 $^{\circ}$ C，pH9.0条件下，每克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碱性木聚糖酶的活力单位。

$$\begin{aligned} \text{BAX活力 (U/g 质重)} &= 10 \times \text{C标准} \times (\text{A测定} - \text{A对照}) \div (\text{A标准} - \text{A空白}) \times \text{V提取} \div \text{W2} \div \text{T} \\ &= 0.67 \times (\text{A测定} - \text{A对照}) \div (\text{A标准} - \text{A空白}) \div \text{W2} \end{aligned}$$

10：样本稀释倍数，10倍； C标准：木糖标准溶液浓度，2 μ mol/mL； V提取：加入缓冲液体积，1mL； W2：样本鲜重，g； T：反应时间，30min； Cpr：样品蛋白浓度，mg/mL； V样品：加入的样品体积，0.2mL。

注意事项：

吸光度变化应该控制在0.01~1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。



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