

中性木聚糖酶检测试剂盒

Neutral Xylanase Assay Kit

分光光度法

货号: AK248

规格: 50T/24S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
提取液 ES34	50mL×1 瓶	4℃保存
AK248-A	15mL×1 瓶	4℃避光保存
AK248-B	25mL×1 瓶	4℃避光保存
AK248-标准品	粉剂×1 支	4℃保存, 临用前加入 667uL 蒸馏水配成 100umol/mL 的标准品溶液, 4℃保存 8 周。

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

简介:

意义: 木聚糖酶 (Neutral xylanase, NEX) (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, NEX 一般分离自最适生长 pH 为 6-8 的微生物。

原理: 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。

自备用品:

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、冰和蒸馏水。

粗酶液提取:

1. 发酵液: 发酵液于 8000rpm, 4℃, 离心 15min, 取上清, 置冰上待测。
2. 酶干粉: 称约 1mg, 加缓冲液 1mL, 震荡溶解, 置冰上待测。

测定步骤:

1. 分光光度计预热30min, 调节波长至540nm。
2. 标准溶液的稀释: 临用前用蒸馏水将标准品稀释为 6、5、4、3、2、1umol/mL 的标准溶液待测。
3. 在 EP 管中按顺序加入下列试剂

试剂名称	对照管 (μ L)	测定管 (μ L)	标准管 (μ L)	空白管 (μ L)
样品	200	200		
标准品			200	
蒸馏水				200
提取液 ES34	300	300	300	300
AK248-A		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)				
AK248-A	200			
AK248-B	300	300	300	300

混匀，沸水浴显色 5min（缠封口膜，防止爆盖），冰浴冷却后测量 540nm 波长下的吸光值 A 对照、A 测定、A 标准、A 空白，计算 $\Delta A_{测定} = A_{测定} - A_{对照}$ ， $\Delta A_{标准} = A_{标准} - A_{空白}$ 。
注：空白管和标准管只需做 1-2 次。

中性蛋白酶活性计算公式：

1. 标准曲线的建立：

以标准品浓度 (x) 为横坐标，吸光度 $\Delta A_{标准}$ (y) 为纵坐标建立标准曲线 $y=kx+b$ 。根据标准曲线，将 $\Delta A_{测定}$ 带入公式中 (y) 计算样本浓度 x (umol/mL)。

2. 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 1umol 还原糖所需的酶量为一个中性木聚糖酶的活力单位。

$$\text{NEX 活力 (U/mL)} = x \div T \times F = x \div 30 \times F$$

3. 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 1umol 还原糖所需的酶量为一个中性木聚糖酶的活力单位。

$$\text{NEX 活力 (U/mg)} = x \times V_{样本} \div (V_{样本} \times W \div V_{提取}) \div T \times F = x \div W \div 30 \times F$$

注：V 样本：加入的样本体积，0.2mL；W：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：加入提取液的体积，1mL；F：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。