

胆盐水解酶（BSH）活性检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
AYFB8-M48	胆盐水解酶（BSH）活性检测试剂盒	48T	微量法
AYFB8-M96		96T	

一、测定意义：

胆盐水解酶测定可精准量化特定微生物或生物样本中胆盐水解酶的活性水平，为评估肠道微生态平衡、脂质代谢紊乱相关疾病的风险提供关键指标。同时，其结果可辅助解析肠道菌群代谢功能异常与宿主健康的关联，为益生菌筛选、疾病机制研究及个性化干预方案制定提供科学依据。

二、测定原理：

胆盐水解酶测定可特异性催化胆盐分子中的酰胺键断裂，释放出游离甘氨酸或牛磺酸等氨基酸衍生物；当加入茚三酮试剂后，其与游离氨基酸在特定温度和 pH 条件下发生显色反应，生成蓝紫色复合物，通过检测该复合物在 570nm 处的吸光度值，可间接量化胆盐水解酶的活性水平。

三、试剂组成：

试剂名称	试剂装量(48T)	试剂装量(96T)	保存条件
提取液	液体 60mL×1 瓶	液体 110mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	液体 45mL×1 瓶	液体 90mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	液体 1.5mL×1 支	液体 1.5mL×2 支	2-8℃保存
试剂三	液体 3mL×1 瓶	液体 6mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂四	液体 15mL×1 瓶	液体 30mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂五	粉剂 ×1 支	粉剂 ×2 支	2-8℃保存
试剂五配制： 用时每支粉剂加入 1 瓶试剂四中，混匀充分溶解，现用现配。			
试剂六	液体 15mL×1 瓶	液体 30mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂七	液体 45mL×1 瓶	液体 90mL×1 瓶	2-8℃保存
标准品	粉剂 ×1 瓶	粉剂 ×2 瓶	2-8℃保存
标准品配制： 用时每瓶粉剂加 5mL 蒸馏水，混匀充分溶解，现用现配。			

四、操作步骤：

样本前处理

1、组织：按照组织质量(g):提取液(mL)为1:10 的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）进行冰浴匀浆。5000 rpm，4℃离心 10 min，取上清置冰上待测。

2、细菌、细胞：按照细胞数量 10⁴个：提取液体积（mL）500~1000:1 的比例（建议 500 万细胞加入 1 mL 提取液），冰浴超声波破碎细胞（功率 300w，超声 3s，间隔 7s，总时间 3 min），5000 rpm，4℃离心 10min，取上清置冰上待测。

测定步骤

- 1、酶标仪预热 30min 以上，调节波长至570nm；
- 2、测定前将试剂恢复至常温；
- 3、将100μmol/mL标准品用蒸馏水依次稀释至0.02、0.05、0.1、0.2、0.4μmol/mL，备用；
- 4、样本测定

(1) 酶促反应表（在离心管中加入以下试剂）：

试剂名称	测定管	对照管
样品（μL）	20	20
试剂一（μL）	360	380
试剂二（μL）	20	-
混匀，37℃孵育 30min		
试剂三（μL）	20	20
混匀，10000 转/min 常温离心 10min，取上清液备用。		

(2) 显色反应（在离心管中加入以下试剂）：

试剂名称	测定管	对照管	空白管	标准管
上清液（μL）	125	125	-	-
标准品（μL）	-	-	-	125
蒸馏水（μL）	-	-	125	-
试剂五（μL）	125	125	125	125
试剂六（μL）	125	125	125	125
混匀，沸水浴 30min，冷却至室温				

试剂七 (μL)	375	375	375	375
混匀，室温静置 5min，显色稳定后于波长 570nm 处测定各管吸光度值。注：每个待测样本需设定一个测定管和一个对照管；分别记为 A _{测定} ，A _{对照} ，A _{标准} ，A _{空白} ，计算 $\Delta A_{测定} = A_{测定} - A_{对照} - A_{空白}$ ， $\Delta A_{标准} = A_{标准} - A_{空白}$ 。（空白管只需做 1 到 2 管）				

五、胆盐水解酶（BSH）活性计算：

1、标准曲线绘制：以吸光度值为横坐标，标准品浓度为纵坐标，绘制标准曲线 $y = kx + b$ ，x 为吸光度值，y 为标准品浓度（μmol/mL）。根据标准曲线，将 $\Delta A_{测定}$ 带入公式计算出样本浓度（y，μmol/mL）；

2、细胞、组织样本活性计算

(1) 按样本鲜重计算：

单位定义：每克组织每分钟水解生成 1μmol 氨基酸为一个酶活力单位。

计算公式：BSH (μmol/min/g) = $y \times V_{反总} \div (V_{样} \div V_{样总} \times W) \div T = 0.7 \times y \div W$

(2) 按样本蛋白浓度计算：

单位定义：每毫克蛋白每分钟水解生成 1μmol 氨基酸为一个酶活力单位。

计算公式：BSH (μmol/min/mg prot) = $y \times V_{反总} \div (V_{样} \times Cpr) \div T = 0.7 \times y \div Cpr$

(3) 按细菌或细胞数量计算：

单位定义：每 1 万个细菌或细胞每分钟水解生成 1μmol 氨基酸为一个酶活力单位。

计算公式：BSH (μmol/10⁴ cell) = $y \times V_{反总} \div (V_{样} \div V_{样总} \times 500) \div T = 0.0014 \times y$

$V_{反总}$ ：反应体系总体积 0.42mL； $V_{样}$ ：加入样本体积，0.02mL；

$V_{样总}$ ：加入提取液体积，1mL；T：反应时间，30min；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g；500：细菌或细胞总数，500 万。

六、注意事项：

- 1、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；
- 2、实验材料需新鲜，研磨及提取过程全程在冰上或 4℃ 条件下进行，避免酶因高温失活；离心后上清液需及时使用或低温暂存，减少酶活性损失。

【厂家信息】

生产企业：南京陌凡生物科技有限公司

地址：南京市栖霞区红枫科技园 A6 栋 2 层

【售后微信】



【说明书核准及修改日期】

核准日期：2025 年 4 月 7 日

修改日期：2025 年 4 月 7 日