

## 中性木聚糖酶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 |
|-----------|-------------------|------|------|
| PYHB2-M48 | 中性木聚糖酶活性检测<br>试剂盒 | 48T  | 微量法  |
| PYHB2-M96 |                   | 96T  |      |

### 一、测定意义：

木聚糖酶（ACX）又称戊聚糖酶或半纤维素酶，多存在于耐酸真菌、细菌和部分霉菌中，可催化木聚糖水解，作为细胞壁以及β-葡聚糖的分解酶，能够明显降低原料的粘度，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，在酿造和饲料等领域具有广泛应用。

### 二、测定原理：

中性木聚糖酶能够在中性环境下将木聚糖降解为还原性寡糖和单糖，进一步与 3,5-二硝基水杨酸反应生成棕红色氨基化合物，产物在 540 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可表征中性木聚糖酶的活性。

### 三、试剂组成：

| 试剂名称                                                       | 试剂装量(48T)   | 试剂装量(96T)    | 保存条件   |
|------------------------------------------------------------|-------------|--------------|--------|
| 试剂一                                                        | 液体 75mL×1 瓶 | 液体 125mL×1 瓶 | 2~8℃保存 |
| 试剂二                                                        | 液体 3mL×1 瓶  | 液体 6mL×1 瓶   | 2~8℃保存 |
| 试剂三                                                        | 液体 10mL×1 瓶 | 液体 20mL×1 瓶  | 2~8℃保存 |
| 标准品<br>(10mg)                                              | 粉剂 ×1 瓶     | 粉剂 ×1 瓶      | 2~8℃保存 |
| <b>标准液配制：</b> 使用前每瓶粉剂中加入 667 μL 蒸馏水充分溶解，得到 100μmol/mL 标准液。 |             |              |        |

### 四、操作步骤：

#### 样本前处理

取一定量植物组织擦净水分及杂质，剪碎后放入研钵，加入液氮，研磨成粉状后转移出来，然后准确称重，按照组织质量（g）：提取液

体积(mL)为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL **试剂一**）处理样品，室温研磨至匀浆，4℃ 10000 g 离心 10 min，取上清即为粗酶液，置于冰上待测。

### 测定步骤

- 1、酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 340nm，蒸馏水调零；
- 2、将 100μmol/mL 标准液用蒸馏水稀释成 5、4、3、2、1μmol/mL 标准液备用；
- 3、样本测定（在离心管中依次加入下列试剂）：

| 试剂名称                                                                                                                                                                                                                                                          | 测定管 | 对照管 | 标准管 | 空白管 |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|-----|-----|-----|
| 样本（μL）                                                                                                                                                                                                                                                        | 50  | 50  | -   | -   |
| 蒸馏水（μL）                                                                                                                                                                                                                                                       | -   | -   | -   | 50  |
| 标准液（μL）                                                                                                                                                                                                                                                       | -   | -   | 50  | -   |
| 试剂一（μL）                                                                                                                                                                                                                                                       | 100 | 125 | 100 | 100 |
| 试剂二（μL）                                                                                                                                                                                                                                                       | 25  | -   | 25  | 25  |
| 充分混匀，50℃反应 30min                                                                                                                                                                                                                                              |     |     |     |     |
| 试剂三（μL）                                                                                                                                                                                                                                                       | 75  | 75  | 75  | 75  |
| 充分混匀，沸水浴 5min，冷却后取 200μL 于 96 孔 UV 板中，在 540 nm 处测定吸光值，记为 A <sub>测定</sub> ，A <sub>对照</sub> ，A <sub>标准</sub> ，A <sub>空白</sub> ，计算 ΔA <sub>测定</sub> =A <sub>测定</sub> -A <sub>对照</sub> ，ΔA <sub>标准</sub> =A <sub>标准</sub> -A <sub>空白</sub> 。注：标准曲线和空白组只需测定 1-2 次。 |     |     |     |     |

### 五、中性木聚糖酶活性测定：

- 1、标准曲线的建立：根据标准管的浓度（y，μmol/mL）和吸光度 ΔA<sub>标准</sub>（x，ΔA<sub>标准</sub>），建立标准曲线。根据标准曲线，将 ΔA<sub>测定</sub>（x，ΔA<sub>测定</sub>）带入公式计算样本浓度（y，μmol/mL）。

#### 2、按样本蛋白浓度计算

**单位定义：**50℃ pH 7.4 条件下，每 mg 组织蛋白每分钟分解木聚糖生成 1 μmol 还原糖所需酶量定义为一个酶活力单位。

**计算公式：**中性木聚糖酶（U/mg prot）=  $y \times V_{\text{样总}} \div \text{Cpr} \div T \times F$   
=  $0.033 \times y \div \text{Cpr} \times F$

### 3、按样本质量计算

**单位定义：**50℃ pH 7.4 条件下，每 g 组织每分钟分解木聚糖生成 1

μmol 还原糖所需酶量定义为一个酶活力单位。

**计算公式：**中性木聚糖酶 (U/g) =  $y \times V_{\text{样总}} \div W \div T \times F = 0.033 \times y \div W \times F$

$V_{\text{样总}}$ ：粗酶液总体积，1 mL；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样

本质量，g；T：反应时间：30 min；F：样本稀释倍数。

### 六、 注意事项：

1、若测定吸光值大于 1.1，建议将粗酶液使用试剂一适当稀释后再进行测定，计算时相应修改；

2、为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

#### 【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