

DNS试剂(GB/T 23874)

产品货号: T16942

产品规格: 100ml/500ml

产品简介:

本DNS试剂严格依据国家标准GB/T 23874《饲料添加剂 木聚糖酶活力的测定》配制,试剂中3,5-二硝基水杨酸浓度为3.15g/,适配饲料原料、饲料添加剂中木聚糖酶活力定量检测,试剂由氢氧化钠、3,5-二硝基水杨酸、酒石酸钾钠、酚等组分复配而成,是木聚糖酶DNS比色法检测专用显色试剂。

检测原理:木聚糖酶可将底物木聚糖降解为还原性寡糖与木糖(还原糖);还原糖在碱性沸水浴环境下与DNS试剂发生氧化还原反应,3,5-二硝基水杨酸的硝基被还原为氨基,溶液呈现橙红色;在有效线性范围内,橙红色深浅与酶解生成还原糖浓度成正比,还原糖生成量与木聚糖酶活力正相关;采用分光光度计于540nm波长测定吸光度,结合木糖标准曲线定量还原糖含量,换算得到样品木聚糖酶活力。本产品仅用于科研领域,不适用于临床诊断或其他用途。

产品组成:

产品名称	规格	保存条件
DNS试剂(GB/T 23874)	100ml/500ml	室温,避光

自备材料:

1. 试剂:蒸馏水、醋酸缓冲液(pH5.3)、木聚糖底物溶液(1%)、木糖标准液(1mg/ml)
2. 耗材器具:剪刀、研钵/高速匀浆机、离心管、试管、容量瓶、移液管
3. 仪器设备:恒温水浴锅、离心机、分光光度计、比色皿

操作步骤(仅供参考):

1. 酶液提取(固体/液体饲料添加剂通用)
 - (1) 称取饲料酶制剂样品 0.5-3g,剪碎研磨,加入 pH5.3 醋酸缓冲液约 3ml 充分匀浆,转移至三角瓶,缓冲液多次冲洗研磨器具,洗液全部并入三角瓶。
 - (2) 50℃ 水浴浸提 30min,期间间断搅拌,充分溶出木聚糖酶。
 - (3) 混合液转入 50ml 离心管,4000g 离心 5min,收集上清;沉淀再加 20ml 醋酸缓冲液混匀,同等条件二次离心。
 - (4) 合并两次上清液,用 pH5.3 醋酸缓冲液定容至 100ml,混匀,根据预估酶活适当稀释,作为待测酶液。

2. 葡萄糖标准曲线绘制

取洁净试管按下表加样,以0号管空白调零,540nm测定吸光度,以吸光度为纵坐标、木糖标准浓度(mg/ml)为横坐标绘制标准曲线。

加入物质 (ml)	0	1	2	3	4	5
木糖标准液 (1mg/ml)	0	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0
pH5.3醋酸缓冲液	1.0	0.8	0.6	0.4	0.2	0
DNS试剂	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
沸水浴准确煮沸5min,取出自来水冷却至室温						
蒸馏水	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0
相当于木糖量 (mg)	0	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0

3. 纤维素酶活样品测定

每组同步设置样品管与空白对照管:

- (1) 试管预先 50℃ 水浴预热 10min;各管加入 1ml 待测稀释酶液;空白管替换为等量醋酸缓冲液。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话:400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzybio@126.com

- (2) 加入 2ml 预热至 50℃ 的 1%木聚糖底物溶液，混匀，50℃ 精准水浴 30min。
- (3) 立即加入 2ml DNS 试剂终止酶促反应，充分摇匀；空白管此时补加等量待测酶液。
- (4) 全部试管沸水浴准确煮沸 5min，流水冷却至室温，加 9ml 蒸馏水混匀。
- (5) 分光光度计 540nm 测定各管吸光度，对照标准曲线查出对应木糖质量。

计算：

木聚糖酶活力定义：在50℃、pH5.3条件下，每分钟催化木聚糖水解生成1μmol木糖所需酶量，定义为1个木聚糖酶活力单位U。

固体饲料添加剂酶活 $U(U/g)=(C \times V_T \times k) \div (m \times V_S \times t \times 0.1501)$

液体饲料添加剂酶活 $U(U/ml)=(C \times V_T \times k) \div (V_{\text{样}} \times V_S \times t \times 0.1501)$

C--标准曲线查得木糖质量，mg； V样--液体样品取样体积，ml

Vr--酶提取液定容体积，ml； Vs--测定时取用酶液体积，ml

k--待测酶液稀释倍数； t--酶促反应时间，min

m--称取固体样品质量，g； 0.1501--木糖摩尔质量换算系数(1μmol木糖=0.1501mg)

注意事项：

1. DNS 试剂避光室温保存，严禁冷冻、反复冻融，冻融后显色效率大幅下降，直接失效。
2. 醋酸缓冲液、木聚糖底物现配现用，底物低温易析出，使用前充分水浴溶解。
3. 酶促反应、沸水浴显色时间必须精准把控，温差、时长偏差会造成数值大幅漂移。
4. 样品还原糖浓度过高时，需用醋酸缓冲液稀释酶液后重新检测，最终结果乘以稀释倍数。
5. 待测酶提取液若无法当天检测，2-8℃ 冷藏可保存 2 天，超过 2 天需重新制备。
6. 沸水浴操作时试管管口勿朝向人体，防止液体飞溅烫伤。
7. 分光光度计波长严格设置 490nm，不可沿用植物还原糖检测 540nm 参数，否则数据不满足国标判定要求。
8. 试剂开封后 3 个月内用完，长期敞口存放易氧化失效。
9. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期：

室温，避光，12个月有效。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com