



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 106018397 B

(45)授权公告日 2018.10.09

(21)申请号 201610464254.8

(22)申请日 2016.06.21

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 106018397 A

(43)申请公布日 2016.10.12

(73)专利权人 华南理工大学

地址 510640 广东省广州市天河区五山路
381号

(72)发明人 杨仁党 马千里

(74)专利代理机构 广州市华学知识产权代理有
限公司 44245

代理人 雷月华

(51)Int.Cl.

C12Q 1/34(2006.01)

G01N 21/78(2006.01)

(56)对比文件

CN 201063037 Y,2008.05.21,

CN 201660632 U,2010.12.01,

CN 201993316 U,2011.09.28,

CN 203037583 U,2013.07.03,

CN 203502356 U,2014.03.26,

CN 101865911 A,2010.10.20,

CN 104807764 A,2015.07.29,

CN 101813632 A,2010.08.25,

CN 104792781 A,2015.07.22,

CN 201974384 U,2011.09.14,

CN 2702305 Y,2005.05.25,

CN 203324197 U,2013.12.04,

CN 203672793 U,2014.06.25,

CN 101105491 A,2008.01.16,

CN 105021605 A,2015.11.04,

CN 104111253 A,2014.10.22,

审查员 李帅

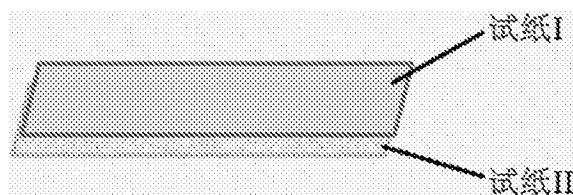
权利要求书1页 说明书4页 附图1页

(54)发明名称

一种检测碱性木聚糖酶活力试纸及其制备方法

(57)摘要

本发明公开了一种检测碱性木聚糖酶活力试纸及其制备方法。所述的制备方法包括以下制备步骤:配制显色剂及缓冲溶液,并在此基础上配制木聚糖标准溶液及不同梯度的碱性木聚糖溶液;将标准木聚糖溶液涂覆在中速定性滤纸上制备成试纸I;将另一张基纸浸渍在配制好的显色剂中,浸匀晾干,表层涂覆一层氧化钙,制备成试纸II;将制备好的试纸在不同浓度梯度的木聚糖酶标准溶液中反应显色,拍照制备比色卡,通过对比比色卡能够得知所测样品木聚糖酶活力。本发明的制备方法制备工艺简单,易于操作,适于工业化生产;所得产物能够有效对木聚糖样品进行检测,具有良好的应用前景。



1. 一种检测碱性木聚糖酶活力试纸的制备方法,其特征在于,包括以下制备步骤:

(1) 依据待测碱性木聚糖酶的特性,配制DNS显色剂,pH=7.80的磷酸二氢钠-磷酸氢二钠缓冲液,并在此基础上配制碱性木聚糖标准溶液、碱性木聚糖酶标准溶液及不同浓度梯度的碱性木聚糖酶溶液;

(2) 将碱性木聚糖标准溶液涂覆在中速定性滤纸上,并且在40℃条件下进行干燥,制备出试纸I;

(3) 将DNS显色剂浸润到另一张中速定性滤纸上,并且在40℃条件下进行避光干燥,完全干燥后,表面涂覆一定量的氧化钙粉末,制备出试纸II;叠合试纸I和试纸II,即为检测碱性木聚糖酶活力试纸;中速定性滤纸的直径为7cm时,表面涂覆的氧化钙粉末为0.10g/面;

(4) 取多张试纸I,然后分别滴加不同浓度梯度的碱性木聚糖酶溶液,精确反应5min,再分别将试纸II贴合在试纸I上,根据试纸II的颜色,得到试纸比色卡;

(5) 根据对比试纸比色卡来确定步骤(3)制备得到的检测碱性木聚糖酶活力试纸的测定范围。

2. 根据权利要求1所述的一种检测碱性木聚糖酶活力试纸的制备方法,其特征在于,步骤(1)所述的pH=7.80的磷酸二氢钠-磷酸氢二钠缓冲溶液浓度是0.1mol/L。

3. 根据权利要求1所述的一种检测碱性木聚糖酶活力试纸的制备方法,其特征在于,步骤(4)检测碱性木聚糖酶试纸比色卡通过数码相机进行拍摄显色反应后的试纸来制备。

4. 一种检测碱性木聚糖酶活力试纸,其特征在于,其由权利要求1至3任一项所述的一种检测碱性木聚糖酶活力试纸的制备方法制备得到。

一种检测碱性木聚糖酶活力试纸及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明属于功能材料技术领域,具体涉及一种检测碱性木聚糖酶活力试纸及其制备方法。

背景技术

[0002] 试纸,指用化学药品浸渍过的、可通过其颜色变化检验液体或气体中某些物质存在的一类纸。各种试纸已经深入到各个领域,并因便利性及廉价性被广泛认同和接受。

[0003] 木聚糖酶是可将木聚糖降解为单糖和寡糖的水解酶。一直以来,其在造纸、食品、饲料、能源等工业都有着较为重大的应用价值,因而引起科研工作者的广泛关注,并对其进行了相关研究。酶活力是衡量酶生物活力的重要指标。对于木聚糖酶活力的测定,国家标准 GB23874-2009 饲料添加剂木聚糖酶活力的测定中已有方法。然而在一些领域中,因为使用的是碱性木聚糖酶,若用该国标所使用的 37℃、pH 为 5.50 的条件进行测定,并非十分便利和准确。即便如此,DNS 显色法测量酶解产物——单糖仍是目前国家标准中测量单糖较为便利快捷的方法。但其本身测量受到试剂,操作,实验条件,实验精度,重复性等多方面的制约,对于很多工业而言,测量起来存在困难。随着对木聚糖酶的研究和发展,如何更加便捷地检测木聚糖酶活力成为一个十分重要的课题。

发明内容

[0004] 为解决现有技术的缺点和不足之处,本发明的首要目的在于提供一种检测碱性木聚糖酶活力试纸的制备方法。

[0005] 本发明的另一目的在于提供一种由上述制备方法得到的检测碱性木聚糖酶活力试纸。

[0006] 本发明目的通过以下技术方案实现:

[0007] 一种检测碱性木聚糖酶活力试纸的制备方法,包括以下制备步骤:

[0008] (1) 依据待测碱性木聚糖酶的特性,配制 DNS 显色剂,pH=7.80 的磷酸二氢钠-磷酸氢二钠缓冲液,并在此基础上配制碱性木聚糖标准溶液、碱性木聚糖酶标准溶液及不同浓度梯度的碱性木聚糖酶溶液;

[0009] (2) 将碱性木聚糖标准溶液涂覆在中速定性滤纸上,并且在 40℃ 条件下进行干燥,裁切成 10mm×50mm 大小,制备出试纸 I;

[0010] (3) 将 DNS 显色剂浸润到另一张中速定性滤纸上,并且在 40℃ 条件下进行避光干燥,完全干燥后,表面涂覆一定量的氧化钙粉末,裁切成 10mm×50mm 大小,制备出试纸 II,叠合试纸 I 和试纸 II 即为检测碱性木聚糖酶活力试纸;

[0011] (4) 取多张试纸 I,然后分别滴加不同浓度梯度的碱性木聚糖酶溶液,滴加量为 0.02mL,精确反应 5min,再分别将试纸 II 贴合在试纸 I 上,根据试纸 II 的颜色,得到试纸比色卡;

[0012] (5) 根据对比试纸比色卡来确定步骤 (3) 制备得到的检测碱性木聚糖酶活力试纸

的测定范围。

[0013] 优选地,步骤(1)所述DNS显色剂配制方法如下:将6.90g结晶苯酚溶于15.2mL质量浓度10%NaOH溶液,蒸馏水稀释至69mL,在此溶液中加入6.90g亚硫酸氢钠,得到A液;将255g酒石酸钾钠溶于300mL质量浓度10%NaOH溶液中,再加入880mL质量浓度1%的3,5-二硝基水杨酸溶液,得到B液;将A液和B液混合即得黄色试剂,储于棕色瓶中放置7-10d后使用。在棕色瓶内保存一年有效。

[0014] 优选地,步骤(1)所述的pH=7.80的磷酸二氢钠-磷酸氢二钠缓冲溶液是0.1mol/L的磷酸二氢钠-磷酸氢二钠缓冲溶液。所述pH=7.80的磷酸二氢钠-磷酸氢二钠缓冲液的配制过程如下:取磷酸氢二钠35.90g,加水溶解,并稀释至500mL,得到甲液;取磷酸二氢钠2.76g,加水溶解,并稀释至100mL,得到乙液;取91.5mL甲液与8.5mL乙液混合,摇匀,即得所述pH=7.8的磷酸二氢钠-磷酸氢二钠缓冲液;

[0015] 步骤(1)所述碱性木聚糖标准溶液的配制方法如下:称取木聚糖1.000g,加入0.32g氢氧化钠,再加入90mL水,磁力搅拌,同时加热,直至木聚糖完全溶解;然后停止加热,继续搅拌30min,加入1.18g磷酸氢二钠;继续磁力搅拌,同时测定其pH;如果pH为7.80,用pH=7.80的磷酸二氢钠-磷酸氢二钠缓冲溶液定容至100mL,如果pH偏离7.80,再用甲液或乙液调节至pH=7.80,然后再用pH=7.8的磷酸二氢钠-磷酸氢二钠缓冲溶液定容至100mL,得到所述碱性木聚糖标准溶液,浓度为10mg/mL。

[0016] 优选地,步骤(1)所述不同浓度梯度的碱性木聚糖酶溶液配制方法如下:等体积比例量取碱性木聚糖酶标准溶液(100U/mL)和pH=7.8的磷酸二氢钠-磷酸氢二钠缓冲溶液,配制成50U/mL的碱性木聚糖酶溶液;等体积比例量取50U/mL的碱性木聚糖酶溶液和pH=7.8的磷酸二氢钠-磷酸氢二钠缓冲溶液,配制成25U/mL的碱性木聚糖酶溶液。

[0017] 优选地,步骤(3)所述的中速定性滤纸的直径为7cm,表面涂覆的氧化钙粉末为0.10g/面。

[0018] 优选地,步骤(4)检测碱性木聚糖酶试纸比色卡通过纸数码相机进行拍摄显色反应后的试纸来制备。

[0019] 一种检测碱性木聚糖酶的试纸,通过以上方法制备得到。使用时,将待测碱性木聚糖酶溶液滴加到试纸I上,反应5min;然后将试纸II贴合在试纸I上,将试纸的颜色与比色卡对比,即可确定待测碱性木聚糖酶溶液的活力范围。

[0020] 与现有技术相比,本发明具有以下优点及有益效果:

[0021] (1) 本发明的检测碱性木聚糖酶的试纸其制备方法制备工艺简单,易于操作,适于工业化生产;

[0022] (2) 本发明制得的检测碱性木聚糖酶的试纸能够对样品中碱性木聚糖酶做半定量检测,具有良好的应用前景。

附图说明

[0023] 图1为实施例1的试纸结构示意图。

具体实施方式

[0024] 下面结合实施例和附图对本发明作进一步详细的描述,但本发明的实施方式不限

于此。

[0025] 实施例1:

[0026] 以改性里氏木霉ATCC56765发酵所产生的碱性木聚糖酶为例,该木聚糖酶粗酶活力为80~100U/mL,最适pH=7.8;

[0027] (1) 配制DNS显色剂,pH=7.80的磷酸二氢钠-磷酸氢二钠缓冲液,并在此基础上配制碱性木聚糖标准溶液、木聚糖酶标准溶液及不同浓度梯度的碱性木聚糖酶溶液;

[0028] DNS显色剂的配制方法如下:A液:将6.90g结晶苯酚溶于15.2mL质量浓度10%NaOH溶液,蒸馏水稀释至69mL,在此溶液中加入6.90g亚硫酸氢钠。B液:将255g酒石酸钾钠溶于300mL质量浓度10%NaOH溶液中,再加入880mL质量浓度1%的3,5-二硝基水杨酸溶液。将A、B二溶液混合即得黄色试剂,储于棕色瓶中放置7-10d后使用。在棕色瓶内保存一年有效。

[0029] pH=7.80的磷酸二氢钠-磷酸氢二钠缓冲液的配制过程如下:取磷酸氢二钠35.90g,加水溶解,并稀释至500mL,得到甲液;取磷酸二氢钠2.76g,加水溶解,并稀释至100mL,得到乙液;取91.5mL甲液与8.5mL乙液混合,摇匀,即得所述pH=7.80的磷酸二氢钠-磷酸氢二钠缓冲液;

[0030] 木聚糖标准溶液的配制方法如下:称取木聚糖1.000g,加入0.32g氢氧化钠,再加入90mL水,磁力搅拌,同时加热,直至木聚糖完全溶解;然后停止加热,继续搅拌30min,加入1.18g磷酸氢二钠;继续磁力搅拌,同时测定其pH;如果pH为7.80,用pH=7.80的磷酸二氢钠-磷酸氢二钠缓冲溶液定容至100mL,如果pH偏离7.80,再用甲液或乙液调节至pH=7.80,然后再用pH=7.8的磷酸二氢钠-磷酸氢二钠缓冲溶液定容至100mL,得到所述木聚糖标准溶液,浓度为100mg/mL;

[0031] 依据《GBT23874-2009饲料添加剂木聚糖酶活力的测定——分光光度法》标定碱性木聚糖酶样品的活力,得到的结果为100U/mL;

[0032] 不同浓度的碱性木聚糖酶溶液配制方法如下:等体积比例量取碱性木聚糖酶样品(100U/mL)和pH=7.8的磷酸二氢钠-磷酸氢二钠缓冲溶液,配制成50U/mL的碱性木聚糖酶溶液;等体积比例量取50U/mL的碱性木聚糖酶样品和pH=7.8的磷酸二氢钠-磷酸氢二钠缓冲溶液,配制成25U/mL的碱性木聚糖酶溶液;

[0033] (2) 将标准木聚糖溶液涂覆在中速定性滤纸上,并且在40℃条件下进行干燥,完全干燥后裁切成10mm×50mm大小,制备出试纸I,如图1所示;

[0034] (3) 将DNS显色剂浸润到另一张直径为7cm的中速定性滤纸上,并且在40℃条件下进行避光干燥,完全干燥后,表层涂覆氧化钙,涂覆量为0.10g/面,裁切成10mm×50mm大小,制备出试纸II,如图1所示;

[0035] (4) 分别将不同浓度梯度的木聚糖酶溶液滴加在试纸I上,滴加量为0.02mL,精确反应5min,再将试纸II贴合在试纸I上,根据试纸II的颜色,通过数码相机拍照得到碱性木聚糖酶试纸比色卡;

[0036] (5) 依据比色卡,碱性木聚糖酶浓度在25U/mL~100U/mL范围内可以通过比色卡较易辨别,因此此工艺制备得到的碱性木聚糖酶试纸测试范围为25U/mL~100U/mL。将待测碱性木聚糖酶溶液滴加到试纸I上,反应5min;然后将试纸II贴合在试纸I上,将试纸的颜色与比色卡对比,即可确定待测碱性木聚糖酶溶液的活力范围。

[0037] 上述实施例为本发明较佳的实施方式,但本发明的实施方式并不受上述实施例的

限制,其他的任何未背离本发明的精神实质与原理下所作的改变、修饰、替代、组合、简化,均应为等效的置换方式,都包含在本发明的保护范围之内。

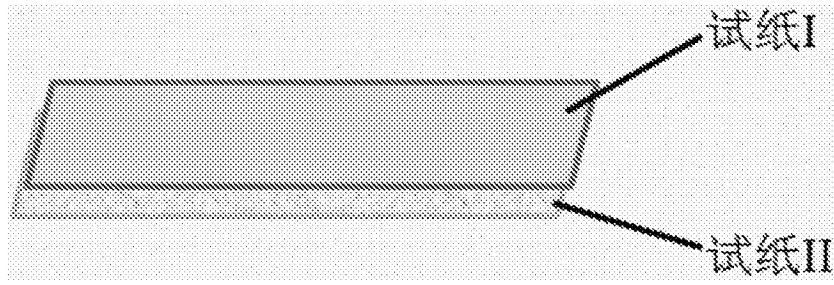


图1