

### 半纤维素（hemicellulose）含量试剂盒说明书

微量法 100管/96样

注意：正式测定之前选择2-3个预期差异大的样本做预测定。

#### 测定意义

半纤维素是植物细胞壁中与纤维素紧密结合的多糖混合物，是构成细胞初生壁的主要成分，广泛存在于植物中，是一种新型可利用能源。

#### 测定原理

半纤维素经酸处理后转化成还原糖，与DNS生成红棕色物质，在540nm有特征吸收峰，吸光值大反映了半纤维素含量。

#### 需自备的仪器和用品、

天平、40目筛，恒温水浴锅、烘箱、可见分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96孔板

#### 试剂组成和配制

试剂一：液体100mL×1瓶，4℃保存。

试剂二：液体20mL×1瓶，4℃保存。

试剂三：液体20mL×1瓶，4℃保存。

试剂四：液体5mL×1瓶，4℃避光保存。

#### 样品处理

样品80℃烘干至恒重，粉碎，过40目筛。

#### 测定操作表

	空白管	测定管
样本（g）		0.02
试剂一（ $\mu$ L）		1000
90℃水浴10min，25℃，8000g离心10min，弃上清		
蒸馏水（ $\mu$ L）		1000
充分混匀，25℃，8000g离心10min，此步骤重复3次，取沉淀105℃，烘干至恒重		
试剂二（ $\mu$ L）	200	200
90℃水浴1h，自然冷却		
试剂三（ $\mu$ L）	200	200

混匀，25°C，8000g离心10min		
上清（μL）	60	60
试剂四（μL）	45	45
蒸馏水（μL）	195	195
充分混匀，90°C水浴5min，自然冷却，25°C，8000g离心10min		
取200μL上清液于微量石英比色皿/96孔板，测定540nm处吸光值A。分别记为A空白管和A测定管， $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}$ 。空白管只要做一管。		

计算公式

a. 用微量石英比色皿计算公式如下：

1、标准条件下测定的回归方程为 $y = 0.3968x + 0.0306$ ， $R^2 = 0.9961$ ；x为标准品浓度（mg/mL），y为吸光值。

2、半纤维素含量（mg/g 干重）=  $(\Delta A - 0.0306) \div 0.3968 \div (W \div V_{\text{样总}})$

$$= 1.01 \times (\Delta A - 0.0306) \div W$$

b. 用96孔板计算公式如下：

1、标准条件下测定的回归方程为 $y = 0.1984x + 0.0306$ ， $R^2 = 0.9961$ ；x为标准品浓度（mg/mL），y为吸光值。

2、半纤维素含量（mg/g 干重）=  $(\Delta A - 0.0306) \div 0.1984 \div (W \div V_{\text{样总}})$

$$= 2.02 \times (\Delta A - 0.0306) \div W$$

W：样品质量，g；V样总：加入提取液体，0.4mL。

检测限为1mg/g。