

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 (μL) | | 1000 |
| 90℃ 水浴 10min, 25℃, 8000g 离心 10min, 弃上清 | | |
| 蒸馏水 (μL) | | 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 (μL) | 200 | 200 |
| 90℃ 水浴 1h, 自然冷却 | | |
| 试剂三 (μL) | 200 | 200 |
| 混匀, 25℃, 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℃水浴 5min，自然冷却，25℃，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。