

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，其吸光值的大小反映了半纤维素含量的高低。

需自备的仪器和用品、

天平、40 目筛，恒温水浴锅、烘箱、酶标仪、96 孔板、80% 乙醇、丙酮

试剂组成和配制

试剂一：液体 100mL×1 瓶，4℃ 保存。如有沉淀，80℃ 加热溶解。

试剂二：液体 100mL×1 瓶，4℃ 保存。

试剂三：液体 60mL×1 瓶，4℃ 保存。

试剂四：液体 5mL×1 瓶，4℃ 避光保存。

样品处理

- 1、样品 80℃ 烘干至恒重，粉碎，过 40 目筛。称取 0.01g 样本，加入 80% 乙醇 1mL，90℃ 水浴 30min，冷却至室温，8000g 25℃ 离心 10min，弃上清留沉淀，80℃ 烘干。
- 2、在上述烘干的沉淀中加入 1mL 试剂一，充分混匀后，95℃ 水浴 60min，取出冷却后，8000g 25℃ 离心 10min，弃上清留沉淀，用蒸馏水清洗 3 次（加入 1mL 蒸馏水混匀即可），8000g 25℃ 离心 10min，弃上清留沉淀，再用丙酮清洗 1 次（加入 1mL 丙酮混匀即可），8000g 25℃ 离心 10min，弃上清留沉淀，80℃ 烘干。
- 3、在上述烘干的沉淀中加入 1mL 试剂二，95℃ 水浴 30min，取出冷却后，8000g 25℃ 离心 10min。取上清 500μL，加入 500μL 试剂三，混匀后待用。

注意：1、80℃ 烘干的时间为 2 小时，依据样本情况可延长烘干时间。2、90℃ 或 95℃ 加热过程中 EP 管可能爆开，建议用胶带封口或使用带螺旋盖的防爆 EP 管。**测定操作表**

在 EP 管中依次加入如下试剂

	空白管	测定管
上清 (μL)		60
蒸馏水 (μL)	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 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1、标准条件下测定的回归方程为 $y = 0.2906x + 0.0609$, $R^2 = 0.9931$; 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) = $(\Delta A - 0.0609) \div 0.2906 \div (W \div V_{\text{样总}})$
= $6.88 \times (\Delta A - 0.0609) \div W$

W: 样品质量, g; V 样总: 加入提取液体, 2mL。