



半纤维素含量检测试剂盒说明书

微量法

注意：正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

产品内容：

试剂一：液体 40mL×1 瓶，4℃保存。

试剂二：液体 20mL×1 瓶，4℃保存。

试剂三：液体 5mL×1 瓶，4℃避光保存。

试剂四：液体 20mL×1 瓶，4℃保存。

试剂五：液体 5mL×1 瓶，4℃避光保存。

标准品：葡萄糖10mg×1支，4℃保存，含 10mg 无水葡萄糖（干燥失重<0.2%），临用前加入 1mL 蒸馏水溶解备用，4℃可保存 1 周，或者用饱和苯甲酸溶液溶解，可保存更长时间。

标准品准备：将标准品用蒸馏水稀释至 1.0、0.5、0.25、0.15、0.1、0mg/mL。

产品说明：

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。

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，吸光值大小反映了半纤维素含量。

试验中所需的仪器和试剂：

天平、40 目筛、离心机、恒温水浴锅、烘箱、可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿。

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	标准管
样本 (g)		0.02	
试剂一 (μL)		400	
90℃, 10min, 25℃, 5000g 离心 10min			
蒸馏水 (μL)		200	
充分混匀 5000g 离心 5min, 此步骤重复 3 次, 取沉淀 105℃, 烘干至恒重			
试剂二 (μL)	200	200	
90℃, 1h, 自然冷却			
试剂三 (μL)	30	30	
试剂四 (μL)	200	200	
若未变为淡红色, 接续加少量试剂四至淡红色, 25℃, 5000g 离心 10min, 取上清			
上清 (μL)	40	40	
标准品 (μL)			40

试剂五 (μL)	30	30	30
蒸馏水 (μL)	150	150	150
充分混匀, 90°C, 5min, 自然冷却			
取 200μL 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, A 测定管和 A 标准管, $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}$			

半纤维素含量计算:

根据标准管的浓度和吸光度 (A 标准管-A 标准管 (0mg/mL)) 建立标准曲线, x 为吸光值, y 为标准品浓度 (mg/mL)。根据标准曲线计算样品中半纤维素的含量, 即将 ΔA (A 测定管-A 空白管) 带入 x 计算出 y 值。

$$\text{半纤维素含量(mg/g 干重)} = y \times V1 \div W \times T = 0.43 \times y \div W \times T$$

V1: 裂解反应总体积, 0.43mL; W: 样品质量, g; T: 上清液稀释倍数;

注意事项

- 1、检测限为 9.8mg/g。
- 2、若样本 OD 值大于最大标准品 OD 值, 需将上清液用蒸馏水稀释后显色, 计算时需乘于稀释倍数。