

半纤维素（hemicellulose）含量试剂盒说明书

分光光度法 50 管/48 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，离心机，恒温水浴锅、烘箱、可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿。

试剂组成和配制：

试剂一：液体 60mL×1 瓶，4℃保存。

试剂二：液体 12mL×1 瓶，4℃保存。

试剂三：液体 12mL×1 瓶，4℃保存。

试剂四：液体 10mL×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）	200	200
试剂四（μL）	150	150
蒸馏水（μL）	650	650
充分混匀，90℃水浴 5min，自然冷却，25℃，8000g 离心 10min		

于 1mL 玻璃比色皿中，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 $y = 0.3968x + 0.0306$ ， $R^2 = 0.9961$ ；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）= $(\Delta A - 0.0306) \div 0.3968 \div (W \div V_{\text{样总}})$

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

W：样品质量，g；V 样总：加入提取液体，0.4mL。

检测限为 1mg/g。