

上海茁彩生物科技有限公司
ZCIBIO Technology Co., Ltd



生化检测原理示意图

Cat. NO: ZC-S0864

Size: 50T/48S

半纤维素 (hemicellulose) 检测试剂盒说明书

可见分光光度法

*正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

一、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。

二、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,吸光值大小反映了半纤维素含量。

三、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。

四、样品处理:

样品 80℃烘干至恒重,粉碎,过 40 目筛。

五、试剂的组成和配置：

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
试剂一	液体 100mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二	液体 50mL×1 瓶	4℃保存	
试剂三	液体 5mL×1 瓶	4℃避光保存	
试剂四	液体 50mL×1 瓶	4℃保存	
试剂五	液体 10mL×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。			

六、测定操作表

	空白管	测定管	标准管
样本 (g)		0.1	
试剂一 (μL)		2000	
90℃, 10min, 25℃, 5000g 离心 10min			
蒸馏水 (μL)		1000	
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)	1000	1000	
90℃, 1h, 自然冷却			
试剂三 (μL)	100	100	
试剂四 (μL)	1000	1000	

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)	200	200	
标准品 (μL)			200
试剂五 (μL)	150	150	150
蒸馏水 (μL)	650	650	650
充分混匀，90℃，5min，自然冷却			
于1mL玻璃比色皿中，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， $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}$			

七、半纤维素含量计算：

根据标准管的浓度和吸光度 ($A_{\text{标准管}} - A_{\text{标准管}} (0\text{mg/mL})$) 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 $\Delta A (A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}})$ 带入 x 计算出 y 值。

$$\text{半纤维素含量 (mg/g 干重)} = y \times V1 \div W \times T = 2.1 \times y \div W \times T$$

V1: 裂解反应总体积，2.1mL；W: 样品质量，g；T: 上清液稀释倍数；

八、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。