

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-S0887

Size: 100T/96S

半纤维素含量检测试剂盒说明书

微量法

*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：

样品处理：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、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 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×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。

五、样品处理

样品 80℃烘干至恒重，粉碎，过 40 目筛。

六、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℃, 5min, 自然冷却			
取 200 μL 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, ΔA=A 测定管-A 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 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;

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, 计算时需乘以稀释倍数。