

## 半纤维素含量检测试剂盒说明书

微量法

货号：AC10704

规格：100T/96S

**产品组成：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系本公司工作人员。**

试剂名称	规格	保存条件
提取液一	液体 60 mL×1 瓶	常温保存
提取液二	液体 60 mL×1 瓶	常温保存
试剂一	液体 100 mL×1 瓶（自备）	4°C保存
试剂二	液体 10 mL×1 瓶	4°C保存
标准品	粉剂×1 支	4°C保存

溶液的配制：

- 1、试剂一：80%乙醇自备；
- 2、标准品：10 mg D-木糖。临用前加入 1 mL 蒸馏水溶解配制成 10 mg/mL 的标准溶液。

### 产品说明：

半纤维素是指在植物细胞壁中与纤维素共生、可溶于碱溶液，遇酸后远较纤维素易于水解的那部分植物多糖，广泛存在于植物中，其分布因植物种属、成熟程度、早晚材、细胞类型及其形态学部位的不同而有很大差异。一种植物往往含有几种由两或三种糖基构成的半纤维素，其化学结构各不相同。半纤维素是一种新型的可利用能源。

### 技术指标：

最低检出限：0.1516 mg/mL

线性范围：0.2-1 mg/mL

**注意：实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。**

### 需自备的仪器和用品：

天平、可见分光光度计/酶标仪、台式离心机、恒温水浴锅、微量玻璃比色皿/96孔板、可调式移液枪、研钵、30~50 目筛、蒸馏水、EP管。

### 操作步骤：

#### 一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

样本自然风干或用烘箱烘干至恒重，研钵充分研磨后，过 30~50 目筛。

#### 二、测定步骤

- 1、分光光度计/酶标仪预热30 min以上，调节波长至540 nm，蒸馏水调零。
- 2、将标准品用蒸馏水稀释至1、0.9、0.8、0.6、0.4、0.2 mg/mL标准液。
- 3、操作表（在1.5 mL EP管中操作）：

试剂名称	空白管	测定管	标准管
样本 (g)		0.05	
试剂一 (μL)		1000	
漩涡混匀, 90°C水浴10 min, 25°C, 8000 g离心10 min, 弃上清留沉淀			
蒸馏水 (μL)		1000	
漩涡混匀, 25°C, 8000 g离心10 min, 弃上清, 此步骤重复三次, 取沉淀, 烘干至恒重			
提取液一 (μL)	500	500	
90°C水浴1 h, 自然冷却至室温			
提取液二 (μL)	500	500	
漩涡混匀, 25°C, 8000 g离心10 min, 取上清待测			
上清液 (μL)	80	80	
标准液 (μL)			80
试剂二 (μL)	80	80	80
蒸馏水 (μL)	160	160	160
漩涡混匀, 90°C水浴5 min, 自然冷却至室温			
取 200 μL 反应液于微量玻璃比色皿/96 孔板中, 在 540 nm 下测定吸光值 A, 分别记为 A 标准、A 测定、A 空白, 计算 $\Delta A_{标准}=A_{标准}-A_{空白}$ , $\Delta A_{测定}=A_{测定}-A_{空白}$ 。(空白管只需测定 1-2 次)			

### 三、半纤维素含量计算

#### 1、标准曲线的绘制:

以各个标准溶液的浓度为x轴, 其对应的 $\Delta A$ 标准为y轴, 绘制标准曲线, 得到标准方程 $y=kx+b$ , 将 $\Delta A$ 带入方程得到x (mg/mL)。

#### 2、半纤维素含量的计算:

$$\text{半纤维素含量 (mg/g 干重)} = x \times V_{\text{样总}} \div W \times F = x \div W \times F$$

V样总: 加入提取液体积, 1 mL; W: 样本质量, g; F: 稀释倍数。

#### 注意事项:

- 1、如果测定吸光值超过线性范围吸光值, 可以增加样本量或者稀释样本后再进行测定。
- 2、建议将加入提取液二离心后的上清液稀释10~20倍后检测。计算公式中注意乘以稀释倍数。