



半纤维素含量检测试剂盒

hemicellulose Assay Kit

微量法

产品编号: AK402M

产品规格: 100T/96S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
AK402-A	60mL×1 瓶	常温保存
AK402-B	60mL×1 瓶	常温保存
AK402-C	10mL×1 瓶	4℃保存
AK402-标准品	粉剂×1 支	4℃保存; 临用前加入 1mL 蒸馏水溶解配制成 10 mg/mL 的标准溶液, 4℃可保存 4 周

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

简介:

意义: 半纤维素 (hemicellulose) 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。

原理: 半纤维素在一定条件下水解为还原性糖类, 还原糖在碱性条件下与 3, 5-二硝基水杨酸 (DNS) 加热被氧化成糖酸及其它产物, DNS 则被还原为棕红色 3-氨基-5-硝基水杨酸, 在 540nm 处具有特征吸收峰, 通过吸光值的变化即可定量检测半纤维素的含量。

自备用品:

可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿/96 孔板、恒温水浴锅、天平、30-50 目筛、80%乙醇、烘箱、蒸馏水、EP 管。

样品处理:

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。

测定步骤:

1. 分光光度计或酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 540nm, 蒸馏水调零。
2. 标准液的稀释: 将 10 mg/mL 的标准溶液用蒸馏水稀释至 1、0.9、0.8、0.6、0.4、0.2 mg/mL 标准溶液待测。
3. 加样表 (在 EP 管中依次加入下列试剂):

试剂名称	空白管 (μL)	测定管 (μL)	标准管 (μL)
样本		0.05g	
80%乙醇		1000	
90℃水浴 10min, 25℃, 8000g 离心 10min, 弃上清留沉淀			
蒸馏水		1000	
充分混匀, 25℃, 8000g 离心 10min, 弃上清, 此步骤重复 3 次, 取沉淀, 烘干至恒重			
AK402-A	500	500	
90℃水浴 1h, 自然冷却至室温			
AK402-B	500	500	
混匀, 25℃, 8000g 离心 10min, 取上清待测			
上清	80	80	
标准液			80
AK402-C	80	80	80

蒸馏水	160	160	160
充分混匀，90℃水浴 5min，自然冷却至室温			
取 200μL 于微量玻璃比色皿/96 孔板中，于 540nm 测定吸光值 A，分别记为 A 空白、A 测定、A 标准，计算 $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ ， $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ 。标准曲线和空白管只需测定 1-2 次。			

酶活性计算公式：

1. 标准曲线的绘制：

根据标准管的浓度（y，mg/mL）和吸光度 $\Delta A_{\text{标准}}$ （x， $\Delta A_{\text{标准}}$ ），建立标准曲线。根据标准曲线，将 $\Delta A_{\text{测定}}$ （x， $\Delta A_{\text{测定}}$ ）带入公式计算样本浓度（y，mg/mL）

2. 半纤维素含量的计算：

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

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 AK402-B 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。