

Hemicellulose Content Assay Kit

半纤维素含量测定试剂盒 微板法

产品编号	产品名称	规格
BL892B	半纤维素含量测定试剂盒 微板法	96T

产品简介:

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。

本试剂盒在美国 NREL 实验室的方法基础上略做改进以检测半纤维素含量，在酸性条件下加热使半纤维素水解生成木糖。通过比色法检测生成的木糖含量，进而计算出半纤维素含量。

产品组成:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 100mL×1 瓶	4°C保存	
试剂一	液体×1 瓶	4°C保存	临用前再缓慢加入 20mL 浓硫酸，混匀备用。
试剂二	粉末×6 瓶	4°C保存	临用前甩几下使粉末落入底部，每瓶加入 6mL 冰乙酸溶解，再缓慢加入 0.36mL 浓盐酸混匀；用不完的试剂避光 4°C保存一个星期。
标准品	粉末×1 支	4°C保存	称取 2mg 标准品至新的离心管中，加入 2mL 蒸馏水溶解，即 1mg/mL 的木糖标准液，然后稀释一倍成 0.5mg/mL，备用

使用方法:

建议正式实验前，选取 2 个样本做预测定，了解实验样品情况，熟悉流程，避免样本和试剂浪费！

一、样本准备:

1. 组织样本:

- 取适量组织样本烘干并磨碎，过 40 目筛备用；取 0.02g 过筛的粉末组织（若是鲜样可取 0.05g，水分充足样本可取 0.1g），加 1.5mL 的 80%乙醇，研磨匀浆，50°C水浴 20min（间隔 3min 晃动几下），取出流水冷却后，12000rpm，25°C 10min，弃上清，留沉淀（尽量保留沉淀）；
- 向沉淀中加入 1mL 的 80%乙醇震荡混匀 2min，50°C水浴 20min（间隔 3min 晃动几下），取出流水冷却后，12000rpm，25°C 10min，弃上清，留沉淀（尽量保留沉淀）；
- 加入 1mL 的提取液（去淀粉），90°C水浴 15min（间隔 3min 晃动一次），12000rpm，室温（25°C）离心 10min，弃上清，留沉淀，向沉淀中加入 1mL 丙酮震荡混匀，12000rpm，室温（25°C）离心 10min，弃上清，留沉淀，（注:若色素仍很多，继续用丙酮提取 2-3 次），打开离心管置于 90°C孵育 20min，使沉淀干燥；
- 在沉淀中加入 0.2mL 试剂一（注:尽量避免沉淀样本粘在管壁上，并密封管口），30°C水

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.

注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。



浴 1 小时后，倒入 10mL 离心管中，再用 5.6mL 蒸馏水分次涮洗 2mL 离心管并收集液体至上述 10mL 离心管中，混匀，密封管口；然后放入 110°C 孵育 1 小时，取出冷却，混匀后可取 1mL 混合液至 2mL 离心管中，于 8000rpm，室温离心 5min，取上清液待测。

二、上机检测：

1. 酶标仪预热 30min 以上，设置温度在 25°C，调节波长至 460nm。
2. 可取两个样本做适当梯度的稀释（如 2 倍，即 1 份上清液+1 份蒸馏水），确定适合本次实验的稀释倍数 D。
3. 在离心管中依次加入：

试剂（ μL ）	测定管	标准管 （仅做一次）	空白管 （仅做一次）
样本	60	-	-
标准品	-	60	-
蒸馏水	-	-	60
试剂二	300	300	300
混匀，沸水浴（95°C）水浴 8min（精确时间；防止水份散失，可用封口膜缠紧），冷却后取 200 μL 至 96 孔板中，于 460nm 处读取吸光值 A， $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}$ 。			

【注】若 A 测定值大于 1，可用蒸馏水进一步稀释样本（即上清液），稀释倍数 D 需代入计算公式重新计算。

三、结果计算：

1. 按样本干重计算：

$$\begin{aligned} \text{半纤维素}(\text{mg/g 重量}) &= (\text{C 标准} \times \text{V1}) \times \Delta A \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \div (\text{W} \times \text{V1} \div \text{V}) \times 0.9 \times \text{D} \\ &= 2.61 \times \Delta A \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \div \text{W} \times \text{D} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{半纤维素含量}(\%) &= \{(\text{C 标准} \times \text{V1}) \times \Delta A \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \div (\text{W} \times \text{V1} \div \text{V}) \times 0.9 \times \text{D} \times 10^{-3} \times 100\} \% \\ &= [0.261 \times \Delta A \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \div \text{W} \times \text{D}] \% \end{aligned}$$

C 标---0.5mg/mL

V---加入提取液体积，5.8mL

V1---加入样本体积，0.06mL

W---取样质量，g

0.9---缩合成半纤维素的换算系数

D---稀释倍数，未稀释即为 1

注意事项：

1. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。
2. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期：

4°C 保存六个月。

