

## 4. 分析項目與方法

### 4.2 原料、前處理物與殘留物之測定項目與方法

原料、前處理物與殘留物等物料之測定項目包括：總固體 (Total solids content in solid material)、醣含量 (Carbohydrates)、酸不可溶木質素 (Acid insoluble lignin, AIL)、酸可溶木質素 (Acid soluble lignin, ASL)、灰分 (Ash)、萃取物 (Extract)、醯基 (O-Acyl group)、纖維素 (Cellulose)、半纖維素 (Hemicellulose)、木質素 (Lignin) 等之含量。

#### 4.2.1 總固體含量 (Total solids content in solid material)

總固體含量係指物料在 105°C 下烘乾至恆重後殘留下來之部分，其餘在 105°C 可被移除之水與揮發性物質 (Volatile materials) 通稱為水分 (Moiture)。用來測量物料總固體含量之方法有 Convection oven procedure 與 Infrared moisture analyzer procedure；其中，Convection oven procedure 如下：

1. 量測預先乾燥過之 Aluminum foil weighing dish 重量：Weight of dish  $W_1$ 。
2. 將待測之物料充分攪拌，取 1~5 g 之樣品置於 Weighing dish 上，並量測樣品與 Weighing dish 之總重 **Weight of sample plus dish  $W_2$** 。
3. 將樣品與 Weighing dish 一起放入對流式烤箱 (Convection oven) 中，於 105°C 下烘烤至恆重 (Constant weight)。
4. 將樣品與 Weighing dish 從烤箱中移出，放在乾燥皿 (Desiccator) 上，冷卻至室溫。
5. 量測烘乾後樣品與 Weighing dish 之總重 **Weight of oven-dried sample plus dish  $W_3$** 。
6. 計算樣品之重量：**Weight of sample as received  $W_4 = \text{Weight of sample plus dish } W_2 - \text{Weight of dish } W_1$** 。
7. 計算樣品之烘乾後重量：**Weight of oven-dried sample  $W_5 = \text{Weight of oven-dried sample plus dish } W_3 - \text{Weight of dish } W_1$** 。
8. 計算總固體含量： **$\% \text{ Total solids} = \frac{W_5}{W_4} \times 100\%$** 。
9. 計算水分含量： **$\% \text{ Moisture} = 1 - \% \text{ Total solids}$** 。

## 4.2.2 醣含量 (Carbohydrates content)

構成生質物料主要成分之碳水化合物 (Carbohydrates) 為一種由葡萄糖 (Glucose)、木糖 (Xylose)、阿拉伯糖 (Arabinose)、半乳糖 (Galactose)、甘露糖 (Mannose) 等單醣 (Monosaccharides) 分子聚合而成之多醣體 (Polysaccharides)。

生質物料醣含量之測定係以 72% 與 4% 之二階段  $H_2SO_4$  水解程序，將不含萃取物 (Extractive-free) 之樣品，分解成醣單體 (Component sugar monomers)，再以高效率液態層析儀 (High performance liquid chromatography, HPLC) 搭配高純度標準糖之檢量線，測定水解後濾液之個別組成醣濃度，再據以計算生質物料之醣含量，其步驟如下：

1. 將待測之生質物料樣品研磨至 1 mm 以下。
2. 測量樣品之總固體含量 (Total solid content)。記錄總固體含量  $\%T_{as\ received}$ 。
3. 若總固體含量  $\%T_{as\ received}$  低於 85%，則將樣品進一步烘乾 (Oven drying)、風乾 (Air drying) 或凍乾 (Lyophilization)，並測定期間之水分流失量，據以計算備料期間之總固體含量  $\%T_{prep}$ 。
4. 視情況依據「萃取物含量」測定步驟移除會干擾醣含量分析之萃取物，取得不含萃取物 (Extractives-free) 之待測物樣品，並記錄萃取物之含量  $\%Extractive$ 。
5. 測量備妥或不含萃取物 (Extractive-free) 之樣品之總固體含量  $\%T_{final}$ 。
6. 取  $0.3 \pm 0.01$  g 備妥或不含萃取物之樣品放入  $16 \times 100$  mm 之試管 (Test tube) 中。記錄樣品之初始重量 **Weight of initial sample  $W_1$** 。
7. 加入  $3.00 \pm 0.01$  mL ( $4.92 \pm 0.01$  g) 之 72% (w/w)  $H_2SO_4$  溶液，立即以玻璃棒攪拌 1 分鐘或直到樣品被完全浸濕 (Wetted)。
8. 將裝有樣品之試管放入水浴槽 (Water bath)，於  $30 \pm 1^\circ C$  下水解 2 小時。水解期間每隔 15 分鐘攪拌一次，以確保反應物充分混合與浸濕。
9. 經過 2 小時之水解後，先加入約  $10 \pm 0.04$  mL 之去離子水混合後，將水解液 (Hydrolyzate) 移轉至血清瓶 (Serum bottle)，再加入  $74 \pm 0.04$  mL 之去離子水將酸濃度稀釋成 4% (w/w)  $H_2SO_4$  ( $1.0250$  g/mL)，總計反應物體積 ( $V_F$ ) 為 87.0 mL、重量為 89.22 g ( $0.3 \pm 0.01$  g 樣品、 $4.92 \pm 0.01$  g 72% (w/w)  $H_2SO_4$ 、 $84 \pm 0.04$  g 去離子水)。移轉過程必須確保沒有殘留反應物留在試管中。
10. 用塞子塞住瓶口，並以鋁箔紙封住，然後放入滅菌釜 (Autoclave) 於  $121 \pm 3^\circ C$  下水解 1 小時 (含升降溫約需時 2 小時)。
11. 水解完成後，讓釜內之水解溶液 (Hydrolysis solution) 冷卻至室溫 (約 20 分鐘)

### →測定 AIL、ASL、O-Acyl group...

12. 取高純度 (98%+) 之葡萄糖 (Glucose)、木糖 (Xylose)、阿拉伯糖 (Arabinose)、半乳糖 (Galactose)、甘露糖 (Mannose) 等標準糖 (稱為 Sugar recovery standard, SRS) 各  $0.3 \pm 0.01$  g, 分別放入  $16 \times 100$  mm 之試管 (Test tube) 中, 參照樣品同步進行實驗, 算出標準糖在歷經二階段酸水解後之回收率 (Recovery) %  $R_{srs}$ , 據以修正醣在水解期間可能受到之破壞。
13. 以去離子水調配葡萄糖、木糖、阿拉伯糖、半乳糖、甘露糖之系列濃度標準溶液, 據以建立葡萄糖、木糖、阿拉伯糖、半乳糖、甘露糖之檢量線 (Calibration line)。若使用 HPX-87C column, 則可採用濃度  $0.2 \sim 12.0$  mg/mL 之葡萄糖、木糖與阿拉伯糖混合標準溶液, 以建立葡萄糖、木糖、阿拉伯糖之檢量線。若使用 HPX-87H column, 則可採用濃度  $0.2 \sim 12.0$  mg/mL 之葡萄糖、木糖、阿拉伯糖、半乳糖與甘露糖混合標準溶液, 以建立葡萄糖、木糖、阿拉伯糖、半乳糖、甘露糖之檢量線。
14. 取出 20 mL 水解溶液至 50 mL 之錐形三角瓶 (Erlenmeyer flasks), 利用  $\text{CaCO}_3$  中和水解溶液之 pH 值至 5~6。
15. 以具  $0.2 \mu\text{m}$  濾片 (Filter) 之注射器 (Syringe) 過濾取樣, 一部分之濾液放入可密封之試管儲存備用, 另一部分則直接或先行稀釋後利用 HPLC 量測樣品在二階段酸水解 (Hydrolyzed sample) 後所含醣濃度。
16. 計算各種標準糖 (SRS) 在歷經二階段酸水解後之回收率 (Amount of recovered from each SRS) :

$$\% R_{srs} = \frac{C_2}{C_1} \times 100\%$$

%  $R_{srs}$  = 標準糖 (SRS) 在歷經二階段酸水解後之回收率。

$C_1$  = 標準糖 (SRS) 在二階段酸水解前之已知濃度 (mg/mL)。

$C_2$  = 標準糖 (SRS) 在二階段酸水解後利用 HPLC 測定之濃度 (mg/mL)。

17. 利用 %  $R_{srs}$  修正樣品在二階段酸水解後 (濾液) 測定之醣濃度:

$$C_{corr} = C_{spl} \div \frac{\%R_{srs}}{100\%}$$

$C_{corr}$  = 樣品在二階段酸水解後 (濾液) 修正之醣濃度 (mg/mL)。

$C_{spl}$  = 樣品在二階段酸水解後（濾液）利用 HPLC 測定之醣濃度（mg/mL）。

18. 計算樣品之醣含量：

$$\% \text{ Sugar} = \frac{C_{\text{corr}} \times \frac{1 \text{ g}}{1000 \text{ mg}} \times V_F}{W_1 \times \frac{\%T_{\text{as received}}}{\%T_{\text{prep}}}} \times 100\% = \frac{C_{\text{corr}} \times \frac{1 \text{ g}}{1000 \text{ mg}} \times V_F}{W_1 \times \frac{\%T_{\text{final}}}{100\%}} \times 100\%$$

若樣品無須經備料程序（即直接以取得之樣品進行分析），則 $\%T_{\text{prep}} = 100\%$ 且 $\%T_{\text{as received}} = \%T_{\text{final}}$ 。

19. 若以不含萃取物（Extractives-free）之待測物樣品進行分析，則不含萃取物之樣品醣含量：

$$\% \text{ Sugar}_{\text{extractive-free}} = \frac{C_{\text{corr}} \times \frac{1 \text{ g}}{1000 \text{ mg}} \times V_F}{W_1 \times \frac{\%T_{\text{final}}}{100\%}} \times 100\%$$

至於萃取前物料樣品之醣含量，則以萃取後不含萃取物之樣品醣含量（ $\% \text{ Sugar}_{\text{extractive-free}}$ ）與萃取物含量（ $\% \text{ Extractive}$ ）計算：

$$\% \text{ Sugar}_{\text{sample}} = \% \text{ Sugar}_{\text{extractive-free}} \times \frac{(100\% - \% \text{ Extractive})}{100\%}$$

#### 4.2.3 酸不可溶木質素含量（Acid insoluble lignin Content）

木質素（Lignin）為非晶體之高分子化合物，係由苯基丙烷（Phenyl propane）所組成之複雜結構物，與蛋白質及碳水化合物之化學性質不同，幾乎（並非全部）不溶於礦物酸（Mineral acids），難水解成單體，且在分離過程中，很容易引起縮合反應（Condensation reaction）。

生質物料之酸不可溶木質素含量係指生質物料在歷經二階段  $\text{H}_2\text{SO}_4$  水解程序後殘留下來，經扣除酸不可溶灰分（Acid insoluble ash）後之物質。測量酸不可溶木質素含量之步驟如下：

1.~11. 參照『醣含量』。

12. 將準備用來過濾水解溶液（Hydrolysis solution）之過濾坩堝（Filtering crucible）置入高溫爐（Muffle furnace），於  $575 \pm 25^\circ\text{C}$  下灼燒（Ignite）至恆重，然後從烤箱移出，放入乾燥皿（Desiccator）備用並測量灼燒後（Ignited）之坩堝重量  $W_c$ 。

13. 利用灼燒後（Ignited）之過濾坩堝（Filtering crucible）過濾水解溶液，並以熱去

離子水將沾黏在玻璃瓶內之任何殘留物沖入過濾坩堝，再以去離子水沖洗過濾殘渣去酸。

14. 將過濾坩堝與坩堝內殘留物放入烤箱，於  $105\pm 3^\circ\text{C}$  下烘烤 2 小時或至恆重，取出後放在乾燥皿上，冷卻至室溫，測量過濾坩堝與所承載之酸不可溶木質素 (AIL)、酸不可溶灰分 (Acid-insoluble ash) 之總重 **Weight of the crucible, acid-insoluble lignin, and acid-insoluble ash  $W_2$** 。
15. 將過濾坩堝與所承載之酸不可溶木質素 (AIL) 與酸不可溶灰分 (Acid-insoluble ash) 置入高溫爐，於  $575\pm 25^\circ\text{C}$  下灼燒 (Ignite) 至少 3 小時或所有碳 (Carbon) 皆已消失。過程中加熱速度不宜過快以避免發火燃燒，若出現物料樣品即將發火，應儘速將容器部分掩蓋。
16. 取出灼燒後之過濾坩堝，放在乾燥皿上，冷卻至室溫，測量過濾坩堝與所承載之酸不可溶灰分 (Acid-insoluble ash) 之總重 **Weight of the crucible and acid-insoluble ash  $W_3$** 。
17. 計算酸不可溶木質素之重量：**Weight of Acid-insoluble lignin  $W_A = W_2 - W_3$** 。
18. 計算酸不可溶木質素含量：

$$\% \text{ Acid-insoluble lignin} = \frac{W_A}{W_1 \times \frac{\% T_{\text{as received}}}{\% T_{\text{prep}}}} \times 100\% = \frac{W_A}{W_1 \times \frac{\% T_{\text{final}}}{100\%}} \times 100\%$$

若樣品無須經備料程序 (即直接以取得之樣品進行分析)，則  $\% T_{\text{prep}} = 100\%$  且  $\% T_{\text{as received}} = \% T_{\text{final}}$ 。

若樣品於分析前，即於  $105^\circ\text{C}$  下乾燥備料，則  $\% T_{\text{as received}} = \% T_{\text{prep}}$  且  $\% T_{\text{final}} = 100\%$ 。

19. 若以不含萃取物 (Extractives-free) 之待測物樣品進行分析，則不含萃取物之樣品酸不可溶木質素含量：

$$\% \text{ AIL}_{\text{extractive-free}} = \frac{W_A}{W_1 \times \frac{\% T_{\text{final}}}{100\%}} \times 100\%。$$

至於萃取前物料之不可溶木質素含量，則以萃取後不含萃取物之樣品酸不可溶木質素含量 ( $\% \text{ AIL}_{\text{extractive-free}}$ ) 與萃取物含量 ( $\% \text{ Extractive}$ ) 計算：

$$\% \text{ AIL}_{\text{sample}} = \% \text{ AIL}_{\text{extractive-free}} \times \frac{(100\% - \% \text{ Extractive})}{100\%}$$

#### 4.2.4 酸可溶木質素含量 (Acid soluble lignin content, ASL)

生質物料經二階段  $\text{H}_2\text{SO}_4$  水解程序後殘留下來，扣除酸不可溶灰分 (Acid insoluble ash) 後之物質稱為酸不可溶木質素 (AIL)，然並非所有木質素皆不可溶於酸，故酸不可溶木質素 (AIL) 並不能代表全部之木質素。至於溶於酸之木質素，則可利用紫外光譜 (Ultraviolet spectroscopy) 由二階段酸水解後之濾液加以測定，其步驟如下：

1.~11. 參照『糖含量』。

12. 依據分光光譜儀 (Spectrophotometer) 操作手冊進行儀器之設定與校正。

13. 利用光線路徑 (Light path) 長度 1 cm 之石英測光管 (Quartz cuvette) 測量濾液對波長 205 nm 之光線之吸光度 (Absorbance)，並利用 4 %  $\text{H}_2\text{SO}_4$  溶液作為 Reference blank。

14. 若吸光度超過 0.7，則將濾液稀釋至吸光度落於 0.2~0.7，並以同一比例稀釋 (df) 4 %  $\text{H}_2\text{SO}_4$  溶液。

15. 預估濾液內酸可溶木質素濃度：
$$\text{ASL (g/L)} = \frac{A}{b \times a} \times df$$

A = 對波長 205 nm 之光線之吸光度。

df = 稀釋比例 (Dilute factor)。

b = 石英測光管之光線路徑長度，b = 1 cm。

a = 吸收係數 (Absorptivity)，a = 110 L/g-cm (大多數之木材落在 88~113 L/g-cm 範圍，因物料而異)。

16. 若以不含萃取物 (Extractives-free) 之待測物樣品進行分析，則不含萃取物之樣品酸可溶木質素含量：

$$\% \text{ASL}_{\text{extractive-free}} = \frac{\frac{A}{b \times a} \times df \times V_F \times \frac{L}{1000 \text{ mL}}}{W_1 \times \frac{\%T_{\text{final}}}{100\%}} \times 100\%$$

至於萃取前物料樣品之酸可溶木質素含量，則以萃取後不含萃取物之樣品酸可溶木質素含量 ( $\% \text{ASL}_{\text{extractive-free}}$ ) 與萃取物含量 ( $\% \text{Extractive}$ ) 計算：

$$\% \text{ASL}_{\text{sample}} = \% \text{ASL}_{\text{extractive-free}} \times \frac{(100\% - \% \text{Extractive})}{100\%}$$

#### 4.2.5 灰分含量 (Ash content)

生質物料之灰分含量係指生質物料經 550~600°C 之乾式氧化 (Dry oxidation) 後殘留下來之物質，包括礦物 (Mineral) 與其他無機物質 (Inorganic matter)。測量灰分含量之步驟如下：

1. 將準備承載物料樣品之秤盤 (Pan) 或坩堝 (Crucible) 置入高溫爐 (Muffle furnace)，於 575±25°C 下灼燒 (Ignite) 至恆重，然後從烤箱移出，放入乾燥皿 (Desiccator) 冷卻至室溫，測量容器之重量：Weight of container  $W_1$ ，並將秤盤或坩堝放入乾燥皿備用。
2. 將經 105°C 烘乾後之待測物樣品 0.5~1.0 g 放入秤盤或坩堝，測量秤盤或坩堝與樣品之總重 Weight of container plus sample  $W_2$ 。
3. 將承載物料樣品之秤盤或坩堝置入高溫爐，於 575±25°C 下灼燒 (Ignite) 至少 3 小時或所有碳 (Carbon) 皆已消失。過程中加熱速度不宜過快以避免發火燃燒，若出現物料樣品即將發火，應儘速將容器部分掩蓋。
4. 灼燒完成後，將殘餘之物質與秤盤或坩堝從高溫爐中移出，放在乾燥皿上，冷卻至室溫，測量秤盤或坩堝與灰分之總重 Weight of container plus ash  $W_3$ 。
5. 計算物料樣品之烘乾後重量：Weight of oven-dried sample  $W_4 = W_2 - W_1$ 。
6. 計算灰分之重量：Weight of ash  $W_5 = W_3 - W_1$ 。
7. 計算灰分之含量： $\% \text{ Ash} = \frac{W_5}{W_4} \times 100\%$ 。

#### 4.2.6 萃取物含量 (Extractive content)

萃取物又稱為抽出成分或抽提物，係指木質纖維素中可被醇類、醚類、丙酮 (Acetone)、二氯甲烷 (Dichloromethane) 等溶劑分離出之可溶物質，如單寧 (Tannins)、樹脂 (Resin)、樹膠 (Gum)、色素 (Coloring matter)、脂肪 (Fats)、澱粉 (Starch)、蠟 (Wax) 等，凡不屬於纖維素、木纖維素、木質素之成分皆可稱為萃取物。由於萃取物會對生質物料之其他項目分析產生干擾，必須在進行其他項目之分析前先行移除，其移除與測定步驟如下：

1. 測量樣品之總固體含量 (Total solid content)。記錄總固體含量  $\%T_{\text{as received}}$ 。
2. 將索式萃取筒 (Soxhlet extraction thimble) 於 150°C 下乾燥至恆重，然後從烤箱移出，放入乾燥皿 (Desiccator) 冷卻至室溫，測量萃取筒之重量 Weight of thimble  $W_1$ 。

3. 將待測物樣品放入萃取筒，至離開口至少 1 cm，測量萃取筒與樣品之總重 **Weight of thimble plus sample  $W_2$** 。
4. 放置一些玻璃棉 (Glass wool) 在樣品上面，防止樣品在萃取過程中流失。
5. 將沸石 (Boiling chips) 放入乾淨、乾燥之量瓶 (Flask) 或燒杯 (Beaker) 中，測量總重，稱為容器重量 **Weight of container  $W_3$** 。加入至少 160 mL、95%之乙醇。
6. 將量瓶 (Flask) 或燒杯 (Beaker) 放回索式萃取設備，插入萃取筒，調整加熱速率使萃取筒內之溶劑循環 (Solvent exchange) 次數達每小時 4~5 次，累計 24 小時達 100~120 次。
7. 當萃取時間結束，移開萃取筒並將筒內樣品小心移至布氏抽濾漏斗 (Buchner funnel)，再以 95%乙醇清洗，利用真空過濾 (Vacuum filtration) 移除殘餘之溶劑，並收集所有之濾液 (Filtrate)，然後令樣品自然風乾。
8. 將索式萃取設備內殘存之溶劑與收集之濾液放入 250 mL 之量瓶或燒杯，放入旋轉蒸餾器 (Rotary evaporator)，於真空下移除溶劑，蒸餾期間並以  $45\pm 5^\circ\text{C}$  之水浴對量瓶或燒杯加熱。
9. 當溶劑經目視判斷已被完全移除後，將量瓶或燒杯取下，放入真空烤箱 (Vacuum oven)，於  $40\pm 1^\circ\text{C}$  下乾燥 24 小時。
10. 將 250 mL 之量瓶或燒杯自真空烤箱取出，放入乾燥皿 (Desiccator) 冷卻至室溫，測量容器與殘留物之總重 **Weight of container plus residue  $W_4$** 。
11. 計算樣品之重量：**Weight of sample  $W_5 = \text{Weight of Thimble plus sample } W_2 - \text{Weight of Thimble } W_1$** 。
11. 量測樣品之烘乾後重量 **Weight of oven-dried sample  $W_5 \rightarrow W_6$** 。
12. 計算萃取物之重量：**Weight of oven-dried extractive  $W_e = \text{Weight of container plus residue } W_4 - \text{Weight of container } W_3$** 。
13. 計算萃取物之含量：**% Extractive =  $\frac{W_e}{W_6} \times 100\%$** 。

#### 4.2.7 醯基含量 (O-Acyl group content)

用於分析醯基含量之方法有酸水解 (Acid hydrolysis)、皂化 (Saponification)、轉酯化 (Transesterification)、分光光度法 (Spectrophotometric) 與胺解法 (Aminolysis) 等，其中最常用於生質物料者為酸水解法。該方法以經二階段之  $\text{H}_2\text{SO}_4$  水解程序將醯基從多醣體釋放出來，形成甲酸 (Formic acid) 與醋酸 (Acetic acid)，又由於五碳糖與六碳糖之降

解產物糠醛 (Furfural) 與羥甲糠醛 (Hydroxymethylfurfural, HMF)，可在高溫與酸環境下形成甲酸，並產出果糖酸 (Levulinic acid)，故可由二階段  $H_2SO_4$  水解程序後之醋酸 (Acetic acid)、甲酸 (Formic acid) 與果糖酸 (Levulinic acid) 等有機酸 (Organic acid) 含量，作為測定醴基含量之依據，其步驟如下：

1.~11. 參照『醴含量』。

12. 取高純度 (98%+) 之醋酸 (Acetic acid)、甲酸 (Formic acid) 與果糖酸 (Levulinic acid) 等有機酸 (Organic acid) 標準品，以去離子水調配醋酸、甲酸與果糖酸之系列濃度標準溶液，據以建立醋酸、甲酸與果糖酸之檢量線 (Calibration line)。若使用 HPX-87H column，則可採用濃度 0.02~0.5 mg/mL 之醋酸、甲酸與果糖酸混合標準溶液，以建立醋酸、甲酸與果糖酸之檢量線。
13. 取出水解溶液 (Hydrolysis solution) 至瓶中，予以激烈攪拌，直到進一步冷卻且固體物質沉澱下來。
14. 以具 0.2  $\mu\text{m}$  濾片 (Filter) 之注射器 (Syringe) 過濾取樣。
15. 利用標準醋酸、甲酸與果糖酸等有機酸之檢量線與 HPLC 測定濾液內之醋酸、甲酸與果糖酸等有機酸濃度 (mg/mL) (Concentration of component in hydrolyzed sample C)。
16. 計算樣品之待分析之有機酸含量：

$$\% \text{ Analyte} = \frac{C \times \frac{1 \text{ g}}{1000 \text{ mg}} \times V_F}{W_1 \times \frac{\%T_{\text{as received}}}{\%T_{\text{prep}}}} \times 100\% = \frac{C \times \frac{1 \text{ g}}{1000 \text{ mg}} \times V_F}{W_1 \times \frac{\%T_{\text{final}}}{100\%}} \times 100\%$$

若樣品無須經備料程序 (即直接以取得之樣品進行分析)，則  $\%T_{\text{prep}} = 100\%$  且  $\%T_{\text{as received}} = \%T_{\text{final}}$ 。

17. 若以不含萃取物 (Extractives-free) 之待測物樣品進行分析，則不含萃取物之樣品待分析之有機酸含量：

$$\% \text{ Analyte}_{\text{extractive-free}} = \frac{C \times \frac{1 \text{ g}}{1000 \text{ mg}} \times V_F}{W_1 \times T_{\text{final}}} \times 100\%$$

至於萃取前物料樣品之待分析之有機酸含量，則以萃取後不含萃取物之樣品待分析之有機酸含量 ( $\% \text{ Analyte}_{\text{extractive-free}}$ ) 與萃取物含量 ( $\% \text{ Extractive}$ ) 計算：

$$\% \text{ Analyte}_{\text{sample}} = \% \text{ Analyte}_{\text{extractive-free}} \times \frac{(100\% - \% \text{ Extractive})}{100\%}$$

#### 4.2.8 纖維素、半纖維素、木質素與灰分含量

Van Soest et al. (1991) 之纖維素、半纖維素、木質素與灰分含量測定方法如下：

1. 計算中洗纖維之含量：取 1 g 之樣本置於 600 mL 燒杯中，加入 100 mL 之中洗溶液（表 4-1），加熱沸騰 5~10 分鐘，然後降低火強度，並保持沸騰狀態 60 分鐘，接著使用預先稱重之濾紙進行真空抽氣過濾，再以 90°C 之熱水清洗、過濾 2 次，然後以丙酮（Acetone）清洗、過濾 2 次，最後於低溫烤箱中烘乾 24 小時，放入乾燥器中冷卻後，秤重並計算中洗纖維（Neutral Detergent Fiber, NDF）之含量。
2. 計算酸洗纖維之含量：取 1 g 之樣本置於 600 mL 燒杯中，加入 100 mL 之酸洗溶液（表 4-2），加熱沸騰 5~10 分鐘，然後降低火強度，並保持沸騰狀態 60 分鐘，接著使用預先稱重之濾紙進行真空抽氣過濾，再以 90°C 之熱水清洗、過濾 2 次，然後以丙酮（Acetone）清洗、過濾 2 次，最後於低溫烤箱中烘乾 24 小時，放入乾燥器中冷卻後，秤重並計算酸洗纖維（Acid Detergent Fiber, ADF）之含量。

表 4-1 中洗溶液之成分

成 分 名 稱	每 1000 mL 之含量
Sodium lauryl sulfate	30 g
EDTA	18.61 g
Sodium tetraborate decahydrate	6.81 g
Sodium phosphate dibasic	4.56 g
2-Ethoxyethanol	10 ml

表 4-2 酸洗溶液之成分

成 分 名 稱	每 1000 mL 之含量
CTAB	20 g
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	28 ml

3. 計算酸洗木質素之含量：延續酸洗纖維之實驗，將酸洗纖維放入 50 mL 之燒杯中，加入 25 mL、72% 之 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 並攪拌成糊狀，之後每小時加入 2 mL、72% 之 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 並攪拌反應物，連續 3 小時，接著使用預先稱重之濾紙進行真空抽氣過濾，然後以 90°C 之熱水清洗並過濾 5 次，再於低溫烤箱中烘乾 24 小時，放入乾燥器中冷卻後，秤重並計算酸洗木質素（Acid Detergent Lignin, ADL）含量。
4. 計算半纖維素含量：樣品中中洗纖維與酸洗纖維之差值，即為半纖維素之含量。

5. 計算纖維素含量：樣品中酸洗纖維與酸洗木質素之差值即為纖維素之含量。
6. 計算木質素含量：延續酸洗木質素之實驗，將所得之酸洗木質素放入高溫烤箱灰化 4 小時後取出，放入乾燥中冷卻並秤得灰分之重量，然後計算酸洗木質素與灰分之差值即為木質素之含量。
7. 計算灰分含量：延續酸洗木質素之實驗，將所得之酸洗木質素放入高溫烤箱灰化 4 小時後取出，放入乾燥中冷卻並秤得灰分之重量。

