半纤维素含量检测试剂盒说明书

规格：48 样　　方法：酶标仪法

一、注意事项

1. 使用前请通读一遍说明书再开始实验。

2. 正式检测前选取 2~3 个样本进行预检测。

3. 本试剂盒仅用于科研。

4. 80℃烘干的时间为 2 小时，依据样本情况可延长烘干时间。

5. 90℃或 95℃加热过程中离心管可能爆开，建议用胶带封口或使用带螺旋盖的防爆 1.5 mL 离心管。

二、产品组分

试剂名称	试剂规格	保存条件	备注
试剂一	55 mL×1	4℃	
试剂二	50 mL×1	4℃	如有沉淀，80℃加热溶解。
试剂三	50 mL×1	4℃	
试剂四	30 mL×1	4℃	
试剂五	2.5 mL×1	4℃避光	

三、仪器和用品

酶标仪、96 孔板、移液器、天平、可降温离心机、超纯水/蒸馏水、**丙酮（自备）**、研磨仪/研钵、冰、水浴锅。

四、样品制备

1. 样品 80℃烘干至恒重，粉碎，过 40 目筛。称取 0.01 g 样本，加入试剂一 1 mL 匀浆，90℃水浴 30 min，冷却至室温，8000 g ，常温离心 10 min，弃上清留沉淀，80℃烘干。

2. 在上述烘干的沉淀中加入 1 mL 试剂二，充分混匀后，95℃水浴 60 min，取出冷却后，8000 g ，常温离心 10 min，弃上清留沉淀，用蒸馏水清洗 3 次（加入 1 mL 蒸馏水涡旋振荡 2 min 左右即可），8000 g，常温离心 10 min，弃上清留沉淀，再用丙酮清洗 1 次（加入 1 mL 丙酮涡旋振荡 2 min 左右即可），8000 g，

常温离心 10 min，弃上清留沉淀，80℃烘干。

3. 在上述烘干的沉淀中加入 1 mL 试剂三，95℃水浴 30 min，取出冷却后，8000 g，常温离心 10 min。取上清 500 μL，加入 500 μL 试剂四，混匀后待用。

五、测定步骤

1. 酶标仪预热 30 min 以上，波长调至 540 nm 处。

2. 在 1.5 mL 离心管中依次加入

	空白管	测定管
上清液（μL）	-	60
超纯水/蒸馏水（μL）	60	-
试剂五（μL）	45	45
超纯水/蒸馏水（μL）	195	195
充分混匀，90℃水浴 5 min，自然冷却，8000 g，常温离心 10 min。取 200 μL 上清液于 96 孔板，测定 540 nm 处吸光值 A。分别记为 A 空白和 A 测定，ΔA=A 测定-A 空白。空白管只需做 2~3 管。		

六、计算

标准方程

标准条件下测得回归方程为：y=0.2906x+0.0609，R^2=0.9931；x 为标准品浓度（mg/mL），y 为吸光值ΔA。

1. 按样本质量计算

半纤维素含量（mg/g 干重）=（ΔA-0.0609）÷0.2906÷（W÷V 提取）=6.88×（ΔA-0.0609）÷W

W：样品质量，g；V 提取：加入提取液体，2 mL。

七、产品简介

半纤维素是植物细胞壁重要多糖组分，与木质素、果胶共同维持细胞壁机械结构。其含量变化直接影响茎秆韧性、果实硬度与生物质利用效率，参与植株生长发育、逆境细胞壁修饰过程，是评价植物组织结构与加工特性的重要生理指标。