

Cellulose (CLL) Content Assay Kit

纤维素（CLL）含量测定试剂盒

产品编号	产品名称	规格
BL891B	纤维素（CLL）含量测定试剂盒	96T

产品简介:

纤维素是由葡萄糖组成的大分子多糖，通常与半纤维素、果胶和木质素结合在一起，是植物细胞壁的主要成分之一。纤维素含量的多少，关系到植物细胞组织发达程度，因而影响作物的抗倒伏、抗病虫害能力的强弱。纤维素也是一种重要的膳食纤维，是自然界中分布最广、含量最多的一种多糖。

纤维素是由葡萄糖基组成的多糖，在酸性条件下加热使其水解成葡萄糖。然后在浓硫酸作用下，使单糖脱水生成糠醛类化合物。利用蒽酮试剂与糠醛类化合物反应生成蓝绿色物质。经光谱扫描该蓝绿色物质在 620nm 处有最大吸收峰，进而得到纤维素含量。

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×3 瓶	4°C保存	临用前甩几下使粉剂落入底部，每瓶再缓慢加入 10mL 浓硫酸，不断搅拌，充分溶解，现配现用。
标准品	粉末×1 支	4°C保存	若重新做标曲，则用到该试剂。

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. 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，10000-12000g，25°C 10min，弃上清，留沉淀（尽量保留沉淀）。
2. 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，10000-12000g，25°C10min，弃上清，留沉淀（尽量保留沉淀）。
3. 加入 1mL 的提取液（去淀粉），90°C水浴 15min（间隔 3min 晃动一次），10000-12000g，室温（25°C）离心 10min，弃上清，留沉淀，向沉淀中加入 1mL 丙酮振荡混匀，10000-12000g，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。
4. 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 7000-8000g，室温离心 5min，取上清液待测。

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。



二、样品测定:

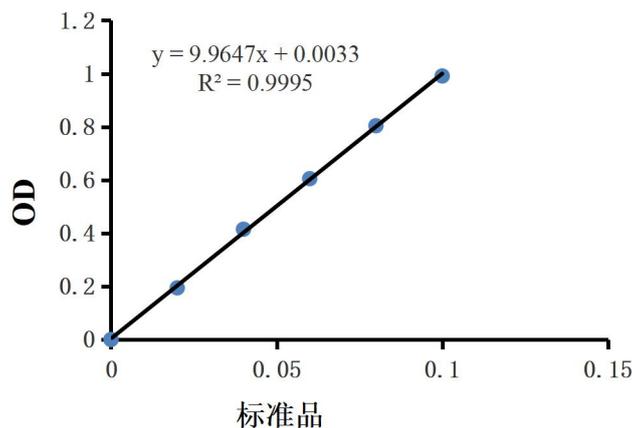
1. 酶标仪预热 30min, 设置温度为 25°C, 设定波长到 620nm。
2. 可取两个样本做适当梯度的稀释 (如 20 倍, 即 1 份上清液+19 份蒸馏水), 确定适合本次实验的稀释倍数 D。
3. 在离心管中依次加入:

试剂名称 (μL)	测定管	空白管 (仅做一次)
样本	125	-
蒸馏水	-	125
试剂二	250	250
混匀, 沸水浴 (95°C) 水浴 5min (防止水份散失, 可用封口膜缠紧), 冷却后取 200μL 至 96 孔板中, 于 620nm 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 1.5, 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、含量计算

1. 标准曲线方程: $y = 9.9647x + 0.0033$, x 为标准品浓度 (mg/mL), y 为 ΔA 。



2. 纤维素含量(mg/g 重量) = $\frac{(\Delta A - 0.0033) \div 9.9647 \times V1}{(W \times V1 \div V) \times 0.9 \times D}$
 $= 0.524 \times (\Delta A - 0.0033) \div W \times D$
 纤维素含量(%) = $\left\{ \frac{(\Delta A - 0.0033) \div 9.9647 \times V1}{(W \times V1 \div V) \times 0.9 \times D} \times 10^{-3} \times 100 \right\} \%$
 $= [0.0524 \times (\Delta A - 0.0033) \div W \times D] \%$

V---加入提取液体积, 5.8mL

V1---加入样本体积, 0.125mL

W---取样质量, g

D---稀释倍数, 未稀释即为 1

0.9---葡萄糖缩合成纤维素的换算系数

附: 标准曲线制作过程:

- 1 制备标准品母液 (1mg/mL):
- 2 把母液稀释成以下浓度梯度的标准品: 0, 0.02, 0.04, 0.06, 0.08, 0.1 mg/mL。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
- 3 依据测定管的加样表操作, 根据结果即可制作标准曲线。

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。



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保存三个月。

