纤维素（CLL）含量检测试剂盒说明书

规格：96 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。

二、产品组分

试剂名称	试剂规格	保存条件	备注
试剂一	130 mL×2	4℃	
试剂二	100 mL×1	4℃	
试剂三	粉剂×1	4℃避光	
试剂四	5 mL×1	4℃	

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、研磨仪/研钵、水浴锅、冰、丙酮、浓硫酸（不允许快递）。

四、样品制备

1、样品 65℃烘干至恒重，研磨后过 40 目筛。

2、称取 0.01 g 样本，加入 1 mL 试剂一，90℃水浴 20 min（加热过程中可能爆盖，建议使用螺纹旋盖离心管，或用保鲜膜缠绕），冷却至室温，8000 g，常温离心 10 min，弃上清。沉淀中加入 1.5 mL 试剂一清洗一遍（涡旋振荡 2 min 左右，8000 g 常温离心 10 min，弃上清），再加入 1.5 mL 丙酮清洗一遍（涡旋振荡 2 min 左右，8000 g 常温离心 10 min，弃上清），沉淀烘干后即为粗细胞壁。

2、在上述粗细胞壁中加入 1 mL 试剂二，充分混匀，90℃水浴 30 min（加热过程中可能爆盖，建议使用螺纹旋盖离心管，或用保鲜膜缠绕）。取出冷却后 8000 g，常温离心 10 min，弃上清。沉淀用蒸馏水重复清洗 3 次（加入 1 mL 蒸馏水混匀，涡旋振荡 2 min 左右，8000 g，常温离心 10 min，弃上清）。沉淀中加入 1 mL 丙酮，混匀后 8000 g ，常温离心 10 min，弃上清，沉淀烘干待用。

3.在上述烘干的沉淀中加入 0.5 mL 蒸馏水（如果不能充分溶解，可以适当匀浆或超声促进溶解），置于冰水浴中，缓慢加入 0.75 mL 浓硫酸，混匀，冰水浴中

静置 30 min，取部分上清液，用蒸馏水稀释 20 倍（部分样本中纤维素含量较低（淀粉含量较高），如米粉、板栗、甘薯等，可不稀释或减小稀释倍数。），8000g ，4℃离心 10 min，置于冰上，上清为待测样本。

五、测定步骤：

1. 酶标仪预热 30 min 以上，波长调至 620 nm 处；

2. 调节水浴锅至 95℃；

3. 工作液的配制：在试剂三中加入 4 mL 试剂四，充分溶解，如较难溶解，可加热搅拌；用不完的试剂 4℃保存一周；

4. 在 1.5 mL 离心管中依次加入：

	测定管	空白管
样本（μL）	150	-
蒸馏水/超纯水（μL）	-	150
工作液（μL）	35	35
浓硫酸（μL）	315	315
充分混匀，置 95℃水浴中 10 min（盖紧，以防止水分散失），冷却至室温后，取 200 μL 至 96 孔酶标板中，于 620 nm 处测定吸光度值，记 A 空白管和 A 测定管，ΔA=A 测定管-A 空白管。注意：1、空白管只要做 2~3 管。2、由于浓硫酸具有强腐蚀性，操作时需小心。		

六、计算：

标准方程

标准条件下测得回归方程为为 y=5.25x-0.0043，x 为标准品浓度（mg/mL），y 为吸光值ΔA。

1. 按照样本质量计算：

纤维素（mg/g 干重）=[（ΔA＋0.0043）÷5.25×V1]÷（W×V1÷V2）×20

=4.76×（ΔA＋0.0043）÷W

V1：加入样本体积，0.15 mL；V2：加入提取液体积，1.25 mL；W：样本干重，0.01 g；20：样本稀释倍数。

七、产品简介

检测纤维素含量能够直观反映植物细胞壁纤维化程度，判断饲草适口性与消

化吸收率。 纤维素含量是评价作物、牧草原料品质，分析植株生长成熟度的核心营养指标。