

Cellulose (CLL) Content Assay Kit

纤维素（CLL）含量测定试剂盒 分光法

产品编号	产品名称	规格
BL891A	纤维素（CLL）含量测定试剂盒 分光法	48T

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	60mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	5mL×1 瓶	4℃保存	临用前再缓慢加入 10mL 浓硫酸，混匀备用。
试剂二	粉末×3 瓶	4℃保存	临用前甩几下使粉剂落入底部，每瓶缓慢加入 10mL 浓硫酸，充分混匀，现配现用。
标准品	粉末×1 支	4℃保存	

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℃水浴 20min（间隔 3min 晃动几下），取出流水冷却后，12000rpm，25℃ 10min，弃上清，留沉淀（尽量保留沉淀）。
2. 沉淀中加入 1mL 的 80%乙醇震荡混匀 2min，50℃水浴 20min（间隔 3min 晃动几下），取出流水冷却后，12000rpm，25℃ 10min，弃上清，留沉淀（尽量保留沉淀）。
3. 加入 1mL 的提取液（去淀粉），90℃水浴 15min（间隔 3min 晃动一次），12000rpm，室温（25℃）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℃）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℃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℃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℃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、样品测定

1. 可见分光光度计预热 30min，设定波长到 620nm，蒸馏水调零。
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。

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。



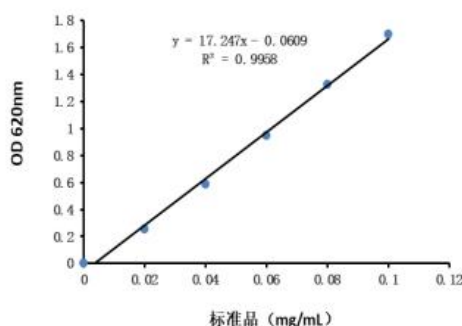
3. 在离心管中依次加入：

试剂名称 (μL)	测定管	空白管 (仅做一次)
样本	250	-
蒸馏水	-	250
试剂二	500	500
混匀，沸水浴（95℃）水浴 5min（精确时间，防止水份散失，可用封口膜缠紧），冷却后全部液体转移至 1mL 玻璃比色皿（光径 1cm）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： $y = 17.247x - 0.0609$ ，x 为标准品浓度（mg/mL），y 为 ΔA 。



2. 纤维素含量(mg/g 重量) = $\frac{(\Delta A + 0.0609) \div 17.247 \times V_1}{(W \times V_1 \div V) \times 0.9 \times D} \times 100\%$
 $= 0.303 \times (\Delta A + 0.0609) \div W \times D$

纤维素含量(%) = $\left\{ \frac{(\Delta A + 0.0609) \div 17.247 \times V_1}{(W \times V_1 \div V) \times 0.9 \times D \times 10^{-3} \times 100} \right\} \%$
 $= [0.0303 \times (\Delta A + 0.0609) \div W \times D] \%$

V---加入提取液体积，5.8mL

V1---加入样本体积，0.25mL

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）：从标准品管中称量取出 2mg 至一新离心管中，再加 2mL 蒸馏水混匀溶解即 1mg/mL 的葡萄糖（母液需在两天内用且-20℃保存）。
2. 把母液用蒸馏水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。

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℃保存六个月。

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。

