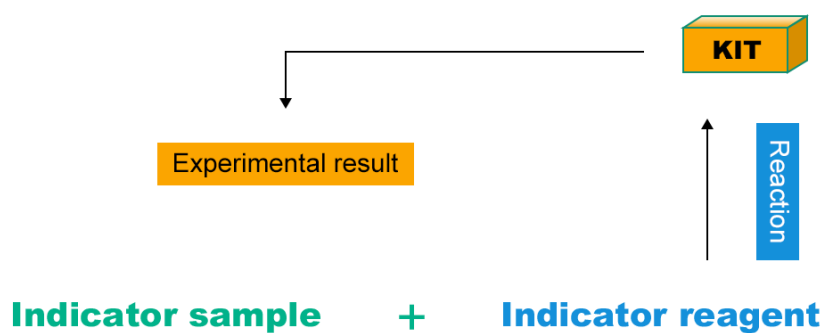


上海茁彩生物科技有限公司  
ZCIBIO Technology Co., Ltd



生化检测原理示意图

Cat. NO: ZC-S0869

Size: 50T/48S

## 纤维素（CLL）含量检测试剂盒说明书

### 分光光度法

\*正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

#### 一、测定意义：

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结构成分。纤维素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。

#### 二、测定原理：

纤维素为  $\beta$ -葡萄糖残基组成的多糖，在酸性条件下加热能分解成  $\beta$ -葡萄糖。 $\beta$ -葡萄糖在强酸作用下，可脱水生成  $\beta$ -糠醛类化合物。 $\beta$ -糠醛类化合物与蒽酮脱水缩合，生成糠醛衍生物。颜色的深浅可间接定量测定纤维素含量。

#### 三、需自备的仪器和用品：

可见分光光度计、水浴锅、可调式移液器、1mL 玻璃比色皿、80%乙醇、丙酮、浓硫酸（不允许快递）、研钵和蒸馏水。

#### 四、试剂的组成和配置：

| 种类  | 试剂规格        | 储存条件   | 使用方法及注意事项 |
|-----|-------------|--------|-----------|
| 试剂一 | 液体 60mL×1 瓶 | 4℃保存   |           |
| 试剂二 | 粉剂×1 瓶      | 4℃避光保存 |           |
| 试剂三 | 液体 6mL×1 支  | 4℃保存   |           |

## 五、样品的前处理：

- 1、样品 80℃烘干至恒重(注意：80℃烘干的时间为 2 小时，依据样本情况可延长烘干时间),粉碎,过 40 目筛。称取 0.01g 样本,加入 1mL 80%乙醇, 90℃水浴 20min(注意：90℃加热过程中 EP 管可能爆开, 建议用胶带封口或使用带螺旋盖的防爆 EP 管), 冷却至室温, 8000g 25℃离心 10min, 弃上清。沉淀中加入 1.5mL80% 乙醇和丙酮各清洗一遍(涡旋振荡 2min 左右, 8000g 25℃离心 10min, 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 1mL 试剂一, 充分混匀, 90℃水浴 30min(注意：90℃加热过程中 EP 管可能爆开, 建议用胶带封口或使用带螺旋盖的防爆 EP 管)。取出冷却后 8000g 25℃离心 10min, 弃上清。沉淀用蒸馏水重复清洗 3 次(加入 1mL 蒸馏水混匀, 涡旋振荡 2min 左右, 8000g 25℃离心 10min, 弃上清)。沉淀中加入 1mL 丙酮, 混匀后 8000g 25℃离心 10min, 弃上清, 沉淀烘干待用。
3. 在上述烘干的沉淀中加入 0.5mL 蒸馏水(注意：沉淀加入 0.5mL 蒸馏水后, 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 0.75mL 浓硫酸, 混匀, 冰水浴中静置 30min, 取部分上清液, 用蒸馏水稀释 20 倍(注意：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 10min, 取上清液待测。

## 六、测定步骤：

- 1、分光光度计预热 30min 以上, 调节波长至 620nm, 蒸馏水调零。
- 2、调节水浴锅至 95 度。
- 3、工作液的配制：在试剂二中加入 4mL 试剂三, 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、加样表(在 EP 管中反应):

| 试剂 ( μL) | 空白管 | 测定管 |
|----------|-----|-----|
| 样本       |     | 300 |
| 蒸馏水      | 300 |     |
| 工作液      | 70  | 70  |
| 浓硫酸      | 630 | 630 |

混匀, 置 95 度水浴 10min(盖紧, 以防止水分散失), 冷却至室温后, 于 620nm 处, 分别读取空白管和测定管吸光值,  $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}$ 。

#### 注意:

- 1、空白管只要做一管。
- 2、由于浓硫酸具有强腐蚀性, 请谨慎操作。

#### 七、纤维素含量计算:

1、标准条件下测定的回归方程为  $y = 7.875x - 0.0043$ ;  $x$  为标准品浓度 (mg/mL),  $y$  为吸光值。

2、按样本质量计算:

$$\text{纤维素 (mg /g 干重)} = [(\Delta A + 0.0043) \div 7.875 \times V1] \div (W \times V1 \div V2) \times 20$$

$$= 3.17 \times (\Delta A + 0.0043) \div W。$$

$V1$ : 加入样本体积, 0.3mL;  $V2$ : 加入提取液体积, 1.25mL;  $W$ : 样本干重, 0.01g;  
 20: 样本稀释倍数。

**注意: 最低检测限为 1mg/g 干重或 10 μg/ mg prot**