



## 纤维素含量检测试剂盒

### Cellulose Assay Kit

可见分光光度法

产品编号: AK395V

产品规格: 50T/48S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
AK395-A	60mL×1 瓶	4℃保存
AK395-B	粉剂×1 瓶	4℃避光保存
AK395-C	10mL× 1 支	4℃保存
AK395-标准品	粉剂× 1 支	4℃保存

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

#### 简介:

**意义:** 纤维素 (Cellulose) 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。

**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, 再与葱酮脱水缩合, 生成糠醛衍生物, 颜色的深浅可间接定量测定纤维素含量。

#### 自备用品:

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)、研钵和蒸馏水等。

#### 样本处理:

1. 细胞壁的提取: 取约 0.3g (标记为 W1) 样本, 加入 1mL 80%乙醇, 室温快速匀浆, 90℃水浴 20min (加热过程中 EP 管可能爆开, 建议用胶带封口或使用防爆 EP 管), 冷却至室温, 6000g 25℃离心 10min, 弃上清。沉淀加入 1.5mL 80%乙醇和丙酮各洗一遍 (涡旋振荡 2min 左右, 6000g 25℃离心 10min, 弃上清即可), 沉淀即为粗细胞壁, 加入 1mL AK395-A (去除淀粉) 浸泡 15 小时, 6000g 25℃离心 10min, 弃上清, 将沉淀干燥, 称重得细胞壁物质 (CWM), 标记为 W2。
2. 纤维素的提取: 称取烘干的 CWM 约 5mg (标记为 W3), 加入 0.5mL 蒸馏水充分匀浆 (若烘干物质质地坚硬, 可先研碎后再加入 0.5mL 蒸馏水匀浆, 或者用匀浆器匀浆), 匀浆液转移至 EP 管中, 用蒸馏水定容至 0.5mL, 置于冰水浴中, 缓慢加入 0.75mL 浓硫酸, 混匀, 冰水浴中静置 30min。8000g 4℃离心 10min, 取上清液, 用蒸馏水稀释 20 倍后待测。

#### 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. 将 AK395-标准品临用前加入 1 mL 蒸馏水溶解, 配成 10 mg/mL 标准溶液备用 (4℃保存两周), 再将 10mg/mL 标准液用蒸馏水稀释为 0.1、0.075、0.05、0.025、0.0125、0.00625 mg/mL 的标准溶液备用。
4. 工作液的配制: 在 AK395-B 中加入 4mL AK395-C, 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;
5. 样本测定 (在 EP 管中反应)

试剂名称	空白管 (μL)	测定管 (μL)	标准管 (μL)
样本		300	
蒸馏水	300		
标准液			300
工作液	70	70	70
浓硫酸	630	630	630
混匀，置 95 度水浴中 10min（盖紧，以防止水分散失），冷却至室温后，于 620nm 处，分别为 A 测定管，A 标准管，A 空白管；计算 $\Delta A = A \text{ 测定管} - A \text{ 空白管}$ ， $\Delta A \text{ 标准} = A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管}$ 。			
<b>注意：空白管及标曲只需做 1-2 次。</b>			

### 纤维素含量计算：

#### 1. 标准曲线的绘制：

根据标准管的浓度 (x, mg/mL) 和吸光度  $\Delta A$  标准 (y,  $\Delta A$  标准)，建立标准曲线。根据标准曲线，将  $\Delta A$  (y,  $\Delta A$ ) 带入公式计算样本浓度 (x, mg/mL)

#### 2. 纤维素含量的计算：

##### (1) 按样本质量计算

$$\text{纤维素 (mg/g 质量)} = x \times V \text{ 提取} \times 20 \times (W2 \div W3) \div W1 + 1.11 = 22.52 \times x \times W2 \div W3 \div W1$$

##### (2) 按样本细胞壁物质 (CWM) 质量计算

$$\text{纤维素 (mg/g 干重)} = x \times V \text{ 提取} \times 20 \div W3 + 1.11 = 22.52x \div W3$$

1.11：是此法测得葡萄糖含量换算为纤维素含量的常数，即 111 μg 葡萄糖用蒽酮试剂显色相当于 100 μg 纤维素蒽酮试剂所显示的颜色；V 提取：纤维素提取液体积，1.25mL (0.5mL 蒸馏水+0.75mL 浓硫酸)；20：样本稀释倍数；W1：样本质量，0.3g；W2：样本细胞壁物质 (CWM) 质量，g；W3，提取纤维素时称取的细胞壁物质 (CWM) 质量，g。

### 注意：

1. 由于浓硫酸具有强腐蚀性，请做好防护，谨慎操作；纤维素提取在加入浓硫酸时，建议枪头伸入样本液面以下，缓慢加入，以防止液体飞溅烧伤；95℃水浴结束取出后需冷却至室温再打开 EP 管盖，以防液体飞溅烧伤。
2. 如果测定吸光值超过线性范围吸光值，可以增加样本量或者稀释样本后再进行测定。