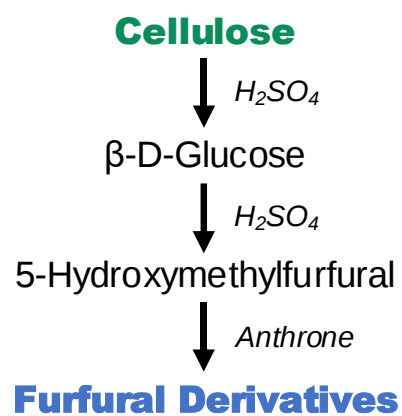




纤维素 (CLL) 含量检测试剂盒
Cellulose (CLL) Content Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



纤维素（CLL）含量检测试剂盒

Cellulose (CLL) Content Assay Kit

一、产品描述

纤维素是自然界中分布最广、含量最多的一种大分子多糖，能够与半纤维素、果胶及木质素结合形成植物细胞壁的主要结构成分。纤维素是由 β -D-葡萄糖以 β -1,4-糖苷键连接而成的直链多聚体，经过特定的物化改性后可具有不同的功能特性，以纤维素及其衍生物为原料制作的产品广泛应用于食品加工、纺织、造纸、精细化工、能源再生、电力及科研器材等领域。

纤维素在酸性条件下可水解为 β -D-葡萄糖， β -D-葡萄糖在强酸环境中脱水生成 β -糠醛类化合物，进一步与蒽酮脱水缩合生成蓝绿色糠醛衍生物，产物在 620 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可定量检测纤维素的含量。

二、产品内容

名称		试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液 A		液体 400 mL×1 瓶 (自备试剂)	4°C 保存	80% (v/v) 乙醇 (320 mL 无水乙醇加入 80 mL 蒸馏水)
提取液 B		液体 100 mL×1 瓶	4°C 避光保存	-
提取液 C		液体 100 mL×1 瓶 (自备试剂)	4°C 保存	按照蒸馏水:浓硫酸=2:3 的体积比配制 (充分混匀，冷却至室温后使用)
显色液	组分 A	粉剂×2 瓶	4°C 避光保存	使用前每瓶组分 A 中加入 3 mL 组分 B 若较难溶解，可震荡或适当超声促溶 (配制后 4°C 可保存一周)
	组分 B	液体 6 mL×1 瓶	4°C 避光保存	
标准品		粉剂×1 支 (10 mg 葡萄糖标准品)	4°C 保存	使用前加入 1 mL 蒸馏水充分溶解 (即为 10 mg/mL 葡萄糖标准液)
标准稀释液的制备：将 10 mg/mL 葡萄糖标准液使用蒸馏水稀释至 0.16、0.12、0.06、0.03、0.015、0.0075 mg/mL 即为标准稀释液。				

需自备试剂：无水乙醇 (C_2H_6O , MW = 46.07, CAS: 64-17-5); 丙酮 (C_3H_6O , MW = 58.08, CAS: 67-64-1);

浓硫酸 (H_2SO_4 , MW = 98.078, CAS: 7664-93-9);

序号	A	1	2	3	4	5	6
稀释前浓度 (mg/mL)	10	1.0	1.0	0.12	0.06	0.03	0.015
标准液体积 (μ L)	100	160	120	500	500	500	500
蒸馏水体积 (μ L)	900	840	880	500	500	500	500
稀释后浓度 (mg/mL)	1.0	0.16	0.12	0.06	0.03	0.015	0.0075

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿（光径 10 mm）/96 孔板、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴、无水乙醇、浓硫酸、丙酮和蒸馏水。

1. 纤维素的提取（可根据预实验结果适当调整样本量）

（1）细胞壁物质（CWM）的提取

①称取 0.1 g（记为 W1）样本，加入 1 mL 提取液 A，室温研磨至匀浆（若样品质地坚硬，可先粉碎后再进行提取），90℃处理 20 min，冷却至室温，8000 g 常温离心 10 min，弃上清，留沉淀；

（注：水浴加热过程中离心管盖有爆开的可能，建议使用胶带封口或使用带卡扣的离心管）

②沉淀使用 1.5 mL 提取液 A 和丙酮交替清洗 2 遍（涡旋振荡 2 min，8000 g 常温离心 10 min，弃上清），沉淀即为粗细胞壁；

③粗细胞壁中加入 1 mL 提取液 B 充分混匀，浸提 15 h，8000 g 常温离心 10 min，弃上清，留沉淀；将沉淀烘干后（80-100℃烘干至恒重），即为细胞壁物质（CWM），称重记为 W2。

（2）纤维素的提取

称取细胞壁物质 5 mg（记为 W3）至离心管中，冰水浴中缓慢加入 1 mL 提取液 C，充分振荡混匀，冰水浴静置 30 min，4℃ 8000 g 离心 10 min，取上清液，将上清液使用蒸馏水稀释 20 倍后即为准待测样本。（注：若细胞壁物质较为坚硬，可先研碎后再加入 1 mL 提取液 C 充分振荡混匀）

2. 测定步骤

①分光光度计或酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 620 nm，蒸馏水调零。

②在离心管中依次加入下列试剂：

试剂	测定管 (μL)	标准管 (μL)	空白管 (μL)
待测样本	150	-	-
标准稀释液	-	150	-
蒸馏水	-	-	150
显色液	35	35	35
浓硫酸	315	315	315
95℃显色 10 min（密封以防止水分散失）			

吸光值测定：反应结束后冷却至室温，吸取 200 μL 反应液至 96 孔板或微量玻璃比色皿中，测定 620 nm 处吸光值，记为 A 测定、A 标准和 A 空白；计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。注：空白管只需测定 1-2 次。

标准曲线的建立：以 0.16、0.12、0.06、0.03、0.015、0.0075 mg/mL 为横坐标（x），以其对应的 $\Delta A_{\text{标准}}$ 为纵坐标（y），得到标准方程 $y=kx+b$ ，将 $\Delta A_{\text{测定}}$ 带入公式中得到 x（mg/mL）。

3. 纤维素 (Cellulose) 含量计算

① 按样本质量计算

$$\text{纤维素含量 (mg/g)} = \frac{x \times V_{\text{提}} \times 20 \times W_2}{W_3 \times W_1 \times 1.11} = \frac{18.02 \times x \times W_2}{W_3 \times W_1}$$

② 按样本细胞壁物质 (CWM) 质量计算

$$\text{纤维素含量 (mg/g)} = \frac{x \times V_{\text{提}} \times 20}{W_3 \times 1.11} = \frac{18.02 \times x}{W_3}$$

注释: 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: 提取过程中加入提取液C的体积, 1 mL; 20: 待测样本稀释倍数; W1: 样本质量, g; W2: 样本细胞壁物 (CWM) 质量, g; W3, 提取纤维素时称取的细胞壁物质 (CWM) 质量, g。

四、注意事项

① 若测定吸光值超出标准吸光值线性范围: 高于最高值建议适当扩大待测样本稀释倍数后再进行测定; 低于最低值建议适当减小待测样本稀释倍数或适当增加样本量后再进行测定, 计算时相应修改;

② 显色液组分B挥发性强且具有刺激性气味, 建议在通风橱中进行显色液的配制, 注意做好防护;

③ 提取液C具有强腐蚀性, 操作时各个步骤均需特别注意: 提取纤维素过程中, 为保障自身安全, 且防止冰水混合物进入离心管中造成试验误差, 置于冰水浴中的离心管需较好固定; 纤维素提取在加入提取液C时, 应缓慢加入以防止液面沸腾烫伤及样本碳化; 95℃水浴结束取出后需冷却至室温再打开离心管盖, 以防液体飞溅烧伤;

④ 为保证结果准确且避免试剂损失, 测定前请仔细阅读说明书 (以实际收到说明书内容为准), 确认试剂储存和准备是否充分, 操作步骤是否清楚, 且务必取2-3个预期差异较大的样本进行预测定, 过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.
Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

