

木质素（Lignin）含量试剂盒说明书

微量法 100管/96样

注意：正式测定之前选择2-3个预期差异大的样本做预测定。

测定意义

木质素是构成植物细胞壁的成分之一，是由聚合的芳香醇构成的一类物质，存在于木质组织中，主要作用是通过形成交联网来硬化细胞壁。木质素主要位于纤维素纤维之间，起抗压作用。

测定原理

木质素中的酚羟基发生乙酰化后在280nm处有特征吸收峰，280nm的吸光值高低与木质素含量正相关。

需自备的仪器和用品、

天平、40目筛，玻璃试管、烧杯、离心机，恒温水浴锅、封口膜、烘箱、紫外分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96孔板(UV板)、高氯酸，浓硫酸。

试剂组成和配制

试剂一：液体50mL×1瓶，4℃保存。

试剂二：液体50mL×1瓶，4℃保存。

试剂三：液体100mL×1瓶，4℃保存。

样品处理

样品80℃烘干至恒重，粉碎，过40目筛，称取约2mg（记为W）于10mL玻璃试管中（务必用玻璃试管，不可用E_p管）

测定操作表

	空白管	测定管
样本（mg）		2
试剂一（ μ L）	500	500
高氯酸（ μ L）	20	20
于10mL玻璃试管中，用封口膜密封，充分混匀，80℃水浴40min，每隔10min震荡一次，然后自然冷却		
试剂二（ μ L）	500	500
充分混匀		
上清（ μ L）	20	20

试剂三 (μL)	980 (参照注意事项四)	980 (参照注意事项四)
取200μL于微量石英比色皿/96孔板, 测定280nm处吸光值A。分别记为A空白管和A测定管, $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}$		

计算公式

标准曲线: $y = 0.0347x + 0.0068$, $R^2 = 0.9889$

$\text{Lignin (mg/g干重)} = (\Delta A - 0.0068) \div 0.0347 \times V_{\text{反总}} \times 10^{-3} \div W \times T = 0.0294 \times (\Delta A - 0.0068) \div 0.002 \times 50$

V反总: 反应总体积: 1.02mL; W: 样本质量, g; T: 稀释倍数

注意事项

1. 试剂一有毒性, 请操作时做好防护措施, 加热前必须用封口膜密封, 以防气体溢出。
2. 加热过程中有剧烈反应, 震荡时轻摇, 以免压力过大喷出造成人身伤害。
3. 试剂三具有强刺激性, 建议操作过程全部在通风橱子操作。
4. 取上清加试剂三步骤根据自己样品乙酰化程度, 试剂三的用量可调整, 保证吸光值在0.1-0.8之间即可, 并在公式中参与计算。