

木质素含量检测试剂盒说明书

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。

规格：100T/96S

产品内容：

试剂一：液体 34mL×1 瓶，4℃保存。每次用完用封口膜密封保存。

试剂二：液体 30mL×1 瓶，4℃保存。

标准品：粉剂×1 支，50mg 木质素，4℃保存。临用前加入 1mL 高氯酸，充分混匀溶解，配成 50mg/mL 的标准液。

产品说明：

木质素是构成植物细胞壁的成分之一，具有使细胞相连的作用。木质素存在于木质组织中，主要作用是通过形成交织网来硬化细胞壁，为次生壁主要成分。

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。

试验中所需的仪器和试剂：

紫外分光光度计/酶标仪、台式离心机、水浴锅、微量石英比色皿/96 孔 UV 板、可调式移液枪、研钵/匀浆器、玻璃管、封口膜、高氯酸、冰乙酸和蒸馏水。

操作步骤：

一、样品处理：

样品 80℃烘干至恒重，粉碎，过 40 目筛，称取约 3mg 于 1.5mLEP 管中。

二、测定步骤：

1、分光光度计/酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 280nm，冰乙酸调零。

2、操作表：在玻璃管中依次加入下列试剂：

	测定管	标准管	空白管
样品（mg）	3	-	-
试剂一（μL）	300	300	300
高氯酸（μL）	12	-	12
标准液（μL）	-	12	-
封口膜密封，充分混匀。于 80℃水浴锅水浴 40min，进行乙酰化。每隔 10min 震荡一次，然后自然冷却。			
试剂二（μL）	300	300	300
充分混匀后于常温 8000g 离心 10min，取上清。			
上清液（μL）	12	12	12

冰乙酸 (μL)	588	588	588
测定 280nm 下的吸光值 A，记为 A 测定管、A 空白管、A 标准管，计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}$ 、 $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$ 。			

三、木质素含量计算：

$C_{\text{标准}} = C_{\text{原液}} \times V_{\text{标准}} \div V_{\text{乙酰化}} \times V_{\text{上清}} \div V_{\text{检测}} = 0.0196 \text{ mg/mL}$

木质素 (mg/g) = $\Delta A \div (\Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{标准}}) \times V_{\text{检测}} \div (W \times V_{\text{上清}} \div V_{\text{乙酰化}})$
 $= 0.5998 \times \Delta A \div \Delta A_{\text{标准}} \div W$

C 标准：标准液在最终检测体系中的浓度，0.0196 mg/mL；C 原液：标准液浓度，50mg/mL；V 标准：加入的标准液的体积，0.012mL；V 乙酰化：乙酰化反应体积，0.612mL；V 上清：上清液体积，0.012mL；V 检测：检测反应总体积，0.6mL；W：样本质量，g。

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、冰乙酸具有强刺激性，建议操作过程全部在通风橱内操作。
- 4、取上清加冰乙酸步骤根据自己样品乙酰化程度，冰乙酸的用量可调整，保证吸光值在 0.1-0.8 之间即可，并在公式中参与计算。