

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织网来硬化细胞壁。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 Ep 管）

测定操作表：

	空白管	测定管
样本 (mg)		2
试剂一 (μL)	500	500
高氯酸 (μL)	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 (μL)	500	500
充分混匀		
上清 (μL)	20	20
试剂三 (μL)	980（参照注意事项四）	980（参照注意事项四）
取 200 μL 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： $y = 0.0347x + 0.0068$ ， $R^2 = 0.9889$

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。