

上海茁彩生物科技有限公司  
Shanghai zcibio technology Co., Ltd.



生化检测原理示意图

## 木质素 (Lignin) 含量试剂盒说明书

### 紫外分光光度法

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、烘箱、封口膜、紫外分光光度计、1mL 石英比色皿、高氯酸。

#### 试剂组成和配制

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
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 5mg (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)		5
试剂一 (μL)	1000	1000
高氯酸 (μL)	40	40

于 10mL 玻璃试管中，用封口膜密封，充分混匀，80°C水浴 40min，每隔 10min 震荡一次，然后自然冷却		
试剂二 (μL)	1000	1000
充分混匀		
上清 (μL)	40	40
试剂三 (μL)	1960 (参照注意事项四)	1960 (参照注意事项四)
取 1mL 于石英比色皿，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:  $y = 0.02776x + 0.0068$ ,  $R^2 = 0.9889$

$$\text{Lignin (mg/g 干重)} = (\Delta A - 0.0068) \div 0.02776 \times V_{\text{反总}} \times 10^{-3} \div W \times T$$

$$= 0.0735 \times (\Delta A - 0.0068) \div W \times T$$

V 反总: 反应总体积: 2.04mL; 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生伤害。
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。
5. 乙酰化测定木质素含量如受到实验环境的影响，可自行制作标准曲线。