

木质素含量检测试剂盒说明书

微量法

注意：本产品试剂有所变动，请注意并严格按照该说明书操作。

货号：BC4205

规格：100T/96S

产品组成：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体 35 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	液体 35 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂三	自备试剂	-
试剂四	液体 34 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂五	液体 1.5mL×1 支	2-8℃保存
试剂六	液体 35 mL×1 瓶	2-8℃保存

溶液配制：

1. 试剂三：自备石油醚（沸程：30~60℃），大约需要 35mL，常温保存；试剂盒内提供一个 30mL 棕色空瓶，仅做分装使用，请自行标注试剂名称。
2. 试剂四：该试剂具有强挥发性和一定的毒性，注意在通风橱操作并且每次用完用封口膜密封保存。
3. 注意：本实验试剂四、试剂五、自备试剂均存在挥发性、一定毒性或者强氧化性，注意加强防护，有条件可全程在通风橱内操作，试剂避免接触到手套上。

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。

注意：实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。

需自备的仪器和用品：

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（非聚苯乙烯材质）、可调式移液枪、研钵、EP管、封口膜、冰乙酸（>98%，AR）、石油醚（沸程：30~60℃）、30-50目筛和蒸馏水。

操作步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

样本 80℃烘干至恒重，研磨，过 30-50 目筛，称取约 3mg 于 1.5mL EP 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，分光光度计用冰乙酸调零。
- 2、操作表（在1.5mL离心管中依次加入下列试剂）：





(1) 乙酰化:

试剂名称	测定管	空白管
样本 (mg)	3	-
试剂一 (μL)	300	-
65°C水浴反应30min。8000g，常温离心5min；去上清，留沉淀；		
试剂二 (μL)	300	-
涡旋震荡5min。8000g，常温离心5min；去上清，留沉淀；		
试剂三 (μL)	300	-
涡旋震荡5min。8000g，常温离心5min；去上清，留沉淀；		
试剂四 (μL)	300	300
试剂五 (μL)	12	12
充分混匀。于80°C水浴锅水浴40min（缠封口膜，防止爆盖），进行乙酰化。每隔10min震荡30s，然后自然冷却至常温。（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）		
试剂六 (μL)	300	300
充分混匀，于8000g，常温离心10min，取上清待测。		

(2) 测定：（注：由于冰乙酸易挥发，请混匀后立即测定！建议混匀一管测一管）

上清液 (μL)	12	12
冰乙酸 (μL)	588（参考注意事项）	588（参考注意事项）
充分混匀，吸取200μL于微量石英比色皿或96孔UV板中，测定280nm下的吸光值A，记为A测定管、A空白管，计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}$ 。空白管只需测1-2次。		

三、木质素含量计算

1、按微量石英比色皿计算:

$$\text{木质素含量 (mg/g)} = \Delta A \div \epsilon \div d \times V_{\text{检测}} \div (V_{\text{上清}} \times W \div V_{\text{乙酰化}}) = 1.3105 \times \Delta A \div W$$

$$\text{木质素的百分含量 (\%)} = \text{木质素含量} : 1000 \times 100\%$$

V乙酰化: 乙酰化反应体积, 0.612mL; ϵ : 木质素消光系数, 23.35mL/mg/cm; d: 微量石英比色皿光径, 1cm; V上清: 上清液体积, 0.012mL; V检测: 检测体积, 0.6mL; W: 样本质量, g; 1000: 换算系数, 1g=1000mg。

2、按96孔UV板进行计算:

将上述公式中的d-1cm修改为d-0.6cm（96孔UV板光径）进行计算即可。

注意事项:

- 1、试剂四有毒性，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、冰乙酸具有强刺激性，建议操作过程全部在通风橱内操作。
- 3、取上清加冰乙酸步骤根据自己样本乙酰化程度，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。
- 4、由于冰乙酸具有挥发性，建议用比色皿进行测定实验。实验混匀后必须立即测定！

相关发表文献:

[1] Hu Y, Liu T, Chen N, Feng C, Lu W, Guo H. Simultaneous bio-reduction of nitrate and Cr(VI) by mechanical milling activated corn straw. J Hazard Mater. 2022 May 5;429:128258. doi: 10.1016/j.jhazmat.2022.128258. Epub 2022



Jan 13. PMID: 35101762.

[2] Wang Z, Yu S, Nie Y, Liu R, Zhu W, Zhou Z, Ma Y, Diao J. Effect of acetochlor on the symbiotic relationship between microalgae and bacteria. J Hazard Mater. 2024 Feb 5;463:132848. doi: 10.1016/j.jhazmat.2023.132848. Epub 2023 Oct 24. PMID: 37924702.

[3] Yu C, Li M, Huang H, Yan J, Zhang X, Luo T, Ye M, Meng F, Sun T, Hou J, Xi B. Electron transfer and microbial mechanism of synergistic degradation of lignocellulose by hydrochar and aerobic fermentation. Bioresour Technol. 2023 Nov 30;394:129980. doi: 10.1016/j.biortech.2023.129980. Epub ahead of print. PMID: 38042433.

参考文献:

[1] Goldschmid O. Determination of phenolic hydroxyl content of lignin preparations by ultraviolet spectrophotometry[J]. Analytical Chemistry, 1954, 26(9): 1421-1423.

[2] Janshekar H, Brown C, Fiechter A. Determination of biodegraded lignin by ultraviolet spectrophotometry[J]. Analytica Chimica Acta, 1981, 130(1): 81-91.

相关系列产品:

BC2030/BC2035 异柠檬酸裂解酶 (ICL) 活性检测试剂盒

BC3170/BC3175 乙酸激酶 (ACK) 活性检测试剂盒

