



木质素含量检测试剂盒说明书

紫外分光光度法

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：BC4200

规格：50T/48S

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 30 mL×1 瓶	2-8°C保存
试剂二	液体 30 mL×1 瓶	2-8°C保存
试剂三	自备	2-8°C保存
试剂四	液体 30 mL×1 瓶	2-8°C保存
试剂五	液体 1.5mL×1 支	2-8°C保存
试剂六	液体 30 mL×1 瓶	2-8°C保存

溶液配制：

1. 试剂三：自备，石油醚，约需要 30mL。（石油醚沸程：30~60°C）
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. 试剂五：试剂有腐蚀性，注意防护。

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。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

需自备的仪器和用品：

紫外分光光度计、台式离心机、水浴锅、1mL石英比色皿、可调式移液枪、研钵、EP管、封口膜、冰乙酸、石油醚、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°C烘干至恒重，研磨，过 30-50 目筛，称取约 5mg 于 1.5mL EP 管中。

二、测定步骤

- 1、分光光度计预热30min以上，调节波长至280nm，冰乙酸调零。
- 2、操作表（在1.5mL离心管中依次加入下列试剂）：

乙酰化:

	测定管	空白管
样本 (mg)	5	-
试剂一 (μL)	500	-
65°C水浴反应30min。8000g，常温离心5min；去上清，留沉淀；		
试剂二 (μL)	500	-
涡旋震荡5min。8000g，常温离心5min；去上清，留沉淀；		
试剂三 (μL)	500	-
涡旋震荡5min。8000g，常温离心5min；去上清，留沉淀；		
试剂四 (μL)	500	500
试剂五 (μL)	20	20
充分混匀（封口膜密封，防止水分散失）。于80°C水浴锅水浴40min，进行乙酰化。每隔10min震荡30s，然后自然冷却至常温。		
试剂六 (μL)	500	500
充分混匀，于8000g，常温离心10min，取上清待测。		

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）

	测定管	空白管
上清液 (μL)	20	20
冰乙酸 (μL)	980（参考注意事项）	980（参考注意事项）
充分混匀，吸取反应液于1mL石英比色皿中，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

木质素含量 (mg/g) = $\Delta A \div \epsilon \div d \times V_{\text{检测}} \div (V_{\text{上清}} \times W \div V_{\text{乙酰化}}) = 2.184 \times \Delta A \div W$

木质素的百分含量 (%) = 木质素含量 $\div 1000 \times 100\% = 0.2184 \times \Delta A \div W$

V乙酰化：乙酰化反应体积，1.02mL； ϵ ：木质素消光系数，23.35mL/mg/cm；d：比色皿光径，1cm；V上清：上清液体积，0.02mL；V检测：检测体积，1mL；W：样本质量，g；1000：换算系数，1g=1000mg。

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. 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。
5. 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] Liang R, Zhao J, Li B, et al. Implantable and degradable antioxidant poly (ϵ -caprolactone)-lignin nanofiber membrane for effective osteoarthritis treatment[J]. Biomaterials, 2020, 230: 119601.

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）活性检测检测试剂盒

BC3170/BC3175 乙酸激酶（ACK）活性检测试剂盒

