木质素含量检测试剂盒

Lignin Assay Kit

微量法

产品编号：AK477M

产品规格：100T/96S

产品组成及保存条件：

编号	规格	储存条件
AK477-A	35mL×1 瓶	4℃保存；
AK477-B	35mL×1 瓶	4℃保存；
AK477-C	自备	4℃保存；石油醚，约需要 35mL（石油醚沸程：30～60℃）
AK477-D	34mL×1 瓶	4℃保存；
AK477-E	1.5mL×1 支	4℃保存；
AK477-F	35mL×1 瓶	4℃保存；

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

简介：

意义：木质素（Lignin）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。

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。

自备用品：

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、石油醚、30-50 目筛和蒸馏水。

样品处理

样本 80℃烘干至恒重，研磨，过 30-50 目筛，称取约 3mg 于 1.5mLEP 管中。

测定步骤：

1. 分光光度计/酶标仪预热 30min，调节波长至 280nm，分光光度计用冰乙酸调零。。
2. 测定操作表：

乙酰化：

试剂名称	测定管（ul）	空白管（ul）
样本（mg）	3	
AK477-A	300	
65℃水浴反应 30min。8000g，常温离心 5min；去上清，留沉淀；		
AK477-B	300	
涡旋震荡 5min。8000g，常温离心 5min；去上清，留沉淀；		
AK477-C	300	
涡旋震荡 5min。8000g，常温离心 5min；去上清，留沉淀；		
AK477-D	300	300
AK477-E	12	12
充分混匀（封口膜密封，防止水分散失）。于 80℃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。		
AK477-F	300	300

充分混匀，于 8000g，常温离心 10min，取上清待测。

测定：

上清	12	12
冰乙酸	588	588
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ΔA=A 测定管-A 空白管。空白管只需测 1-2 次。		

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）

计算公式

1. 按微量石英比色皿计算

   木质素含量（mg/g）=ΔA÷ε÷d×V 检测÷（V 上清×W÷V 乙酰化）=1.3105×ΔA÷W

   木质素的百分含量（%）=木质素含量÷1000×100%

   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：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-0.5cm（96 孔板光径）进行计算即可。

注意事项：

1. AK477-D 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子操作。
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。
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。
6. AK477-E 有腐蚀性，注意防护。