

## 木质素含量测定说明书

(货号: G0708F 紫外法 48 样)

### 一、产品简介:

木质素是一种含有羟基和甲氧基的高分子芳香族化合物,是苯丙烷的衍生物,作为植物的化学成分与纤维素及半纤维素共同形成植物体骨架,大大提高了细胞壁的机械强度,为植物提供支持,适应环境,抗虫病害和抗倒伏的生理功能,同时,在木质素合成过程中产生的一些前体物质酚类和自由基可以破坏原菌相关酶类的生物活性与细胞膜的通透性,从而使植物有一定的自我防御能力。

本试剂盒采用乙酰化法,使木质素中的酚羟基发生乙酰化,其在280nm处有特征吸收峰,280nm的吸光值高低与木质素含量正相关。

### 二、试剂盒组分与配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	液体 40mL×1 瓶	4℃保存	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需密封保存。
试剂二	液体 20mL×1 瓶	4℃保存	

### 三、所需的仪器和用品:

紫外分光光度计、1mL 石英比色皿(光径 1cm)、低温离心机、水浴锅、移液器、冰乙酸。

### 四、木质素含量的测定:

#### 1、样本制备:

- ① 取适量组织样本烘干并磨碎,过 40 目筛备用;取 2mg 过筛的粉末组织,加 1.5mL 的 80%乙醇,涡旋振荡混匀,50℃水浴 20min(间隔 3min 晃动几下),取出流水冷却后,12000rpm,25℃10min,弃上清,留沉淀(尽量保留沉淀)。
- ② 向沉淀中加入 1mL 的 80%乙醇振荡混匀 2min,50℃水浴 20min(间隔 3min 晃动几下),取出流水冷却后,12000rpm,25℃10min,弃上清,留沉淀(尽量保留沉淀),95℃烘干沉淀,待用。

#### 2、上机检测:

- ① 紫外分光光度计预热 30 min,设置温度在 25℃,设定波长到 280nm,蒸馏水调零。
- ② 选用螺旋盖式 2mL 的 EP 管,按照下表加样:

试剂(μL)	测定管	空白管
	样本制备得到的沉淀	
试剂一 (沿管壁缓缓加入)	750	750
混匀,70℃水浴 30min(管口用封口膜封紧或者用重物压实),隔 15min 轻轻震荡一次,结束后自然冷却至室温。 (整个操作过程,谨慎操作,注意防护)		
试剂二 (沿管壁缓缓加入)	300	300
乙酸	450	450

振荡充分混匀，总体积为 1.5mL（即为待检混合液）。

注：由于冰乙酸易挥发，请混匀后立即测定！

室温下 5000rpm 离心 5min，取 200 $\mu$ L 澄清上清液于 1mL 石英比色皿（光径 1cm）中，再加 600 $\mu$ L 乙酸至石英比色皿中，于 280nm 下读取吸光值 A。 $\Delta A=A$  测定管-A 空白管。

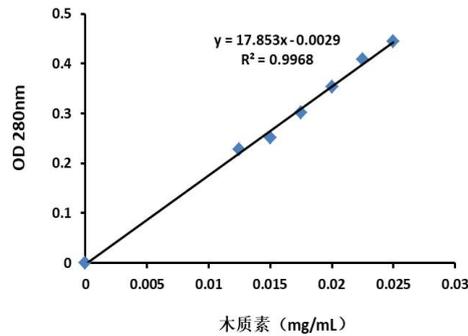
注：由于冰乙酸易挥发，可每次测定 1 个样本。

【注】1.若是木本植物也可考虑添加高氯酸进行乙酰化，即样本制备得到的沉淀+750 $\mu$ L 试剂一+30 $\mu$ L 高氯酸（也需缓慢加入，谨慎操作），充分混匀，70 $^{\circ}$ C水浴 30min（整个操作过程同上），加 300 $\mu$ L 试剂二和 420 $\mu$ L 乙酸，总体积仍为 1.5mL，后续操作过程同上。

2.若 A 测定管大于 1.8，在最后一步用比色皿检测时：取 80 $\mu$ L 澄清上清液+720 $\mu$ L 乙酸至 1mL 石英比色皿（光径 1cm）中（空白管也一样操作），则上清液相当于稀释了 10 倍，则计算公式中的 10 替代 4 参与计算。

## 五、结果计算：

1、标准曲线方程： $y = 17.853x - 0.0029$ ；x 为标准品浓度（mg/mL），y 为  $\Delta A$ 。



2、按样本重量计算：

$$\begin{aligned} \text{木质素(mg/g 重量)} &= [(\Delta A + 0.0029) \div 17.853] \times V1 \div W \times 4 \\ &= 0.084 \times (\Delta A + 0.0029) \div W \times 4 \end{aligned}$$

V1---定容后总体积，1.5mL；

4---至比色皿中检测时上清液稀释倍数；

W---样本重量，1.5mg=1.5 $\times 10^{-3}$ g。