木质素含量检测试剂盒

Lignin Content Assay Kit

Lignin + Acetyl Bromide $\xrightarrow{\textit{Acidic Conditions}}$ **Acetyl Lignin**

北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.

木质素含量检测试剂盒

Lignin Content Assay Kit

一、产品描述

木质素是由芳香醇构成的一类复杂酚类聚合物，是构成植物细胞壁的成分之一，具有使细胞相连的作用。木质素位于纤维素纤维之间，与半纤维素共同构成纤维素网装骨架之间的黏合剂和填充剂，可作为细胞间质填充于胞间层以及细胞壁的微细纤维间。木质素含量及物化特性可作为制浆造纸、木材加工、能源再生和环境保护等领域的重要指标。

木质素中的酚羟基发生乙酰化后生成乙酰木质素，产物在 280 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可定量检测木质素的含量。本试剂盒方法中含有脱糖和脱脂步骤，能够有效排除干扰物质使结果更加准确可靠。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
试剂一	液体 60 mL×1 瓶	4℃保存	**易挥发组分，使用后密封保存**
试剂二	液体 60 mL×1 瓶	4℃避光保存	**易挥发组分，使用后密封保存**
试剂三	液体 60 mL×1 瓶	4℃避光保存	**易挥发组分，使用后密封保存**
试剂四	液体 30 mL×1 瓶	4℃避光保存	**易挥发组分，使用后密封保存**
试剂五	液体 1.5 mL×1 支	4℃保存	-
试剂六	液体 30 mL×1 瓶	4℃保存	-
试剂七	液体 120 mL×1 瓶	4℃避光保存	**易挥发组分，使用后密封保存**

注：试剂四、试剂五和试剂七具有刺激性和挥发性，操作时请做好防护措施，建议在通风处中进行实验操作。

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：酶标仪、**96 孔 UV 板/石英酶标板**、可调式移液器/多道移液器、恒温水浴/培养箱、30-50 目筛、**冻存管（耐腐蚀）**、封口膜和蒸馏水。

1.样本预处理

样本 80℃烘干至恒重，粉碎后过 30-50 目筛，即为**待测样本**。

Not for further distribution without written consent. Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

2.测定步骤

①酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 280 nm。

②在密封性良好冻存管（耐腐蚀）中依次加入下列试剂：

试剂	测定组（μL）	空白组（μL）
待测样本（mg）	5	-
试剂一	500	-
充分混匀，65℃处理 30 min，冷却至室温 8000 g 常温离心 5 min，弃上清，**留沉淀**		
试剂二	500	-
旋涡振荡混匀 5 min 8000 g 常温离心 5 min，弃上清，**留沉淀**		
试剂三	500	-
①旋涡振荡混匀 5 min； ②8000 g 常温离心 5 min，弃上清，**留沉淀；** ③通风橱中开盖静置 5-10 min，使液体完全挥发；		
试剂四	250	250
试剂五	10	10
密封后充分混匀，80℃处理 40 min，进行乙酰化 每隔 10 min **缓慢**混匀一次，反应结束后冷却至室温		
试剂六	250	250
充分混匀，8000 g 常温离心 5 min，**取上清液**		
上清液	10	10
试剂七	490	490
充分混匀，即为**反应液**		

注：①因试剂存在挥发性，加样和反应过程建议在通风橱中进行操作并做好防护措施；②留取沉淀过程中建议使用移液器吸取上清进行去除，同时应注意切勿误吸损失沉淀；③乙酰化过程反应较为剧烈，80℃处理过程需严格密封，以防气体和液体溢出，且乙酰化过程混匀时应缓慢水平轻摇，切勿颠倒混匀，以免压力过大喷出造成伤害；④反应液具有挥发性，开盖后应尽快完成测定，以防止挥发造成吸光值变化。

吸光值测定：吸取 200 μL 反应液至 96 孔 UV 板中，测定 280 nm 处吸光值，记为 A 测定和 A 空白；计算ΔA 测定=A 测定-A 空白。注：空白组只需测定 1-2 次。

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.
Not for further distribution without written consent. Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

3.木质素含量计算

$$木质素含量（mg/g）= \frac{\Delta A\times（V_{上清}+V_{S7}）\times V_{乙酰化}}{\varepsilon\times d\times V_{上清}\times W} = \frac{2.184\times\Delta A}{W}$$

$$木质素百分含量（\%）= \frac{木质素含量\times 100\%}{1000} = \frac{0.2184\times\Delta A}{W}$$

注释：$V_{上清}$：反应体系中最后一步离心后吸取上清液的体积，0.01 mL；V_{S7}：反应体系中加入试剂七的体积，0.49 mL；$V_{乙酰化}$：乙酰化反应体积（试剂四+试剂五+试剂六的体积），0.51 mL；ε：木质素消光系数，23.35 mL/mg/cm；d：96 孔 UV 板光径，0.5 cm；W：待测样本质量，g；1000：单位换算系数，1 g=1000 mg；D：反应液稀释倍数，若未稀释则为 1。

四、注意事项

①根据乙酰化程度不同，需调整**试剂七**加入量，控制 A 测定处于 0.1-0.8 之间可保证结果准确性：

• **若 A 测定大于 0.8：**建议将反应液使用**试剂七**适当稀释后再进行吸光值测定，可以设置几个梯度进行预实验确定稀释倍数，使 A 测定小于 0.8 即可，计算时修改公式中稀释倍数 D 即可；例如吸取 100 μL **反应液**加入 900 μL 试剂七后充分混匀再进行吸光值测定，该条件下稀释倍数为 10；

• **若 A 测定小于 0.1：**建议适当**减少**试剂七的加入量使 A 测定大于 0.1，例如吸取 10 μL 上清液加入 490 μL 试剂七，改为吸取 10 μL 上清液加入 240 μL 试剂七进行预实验，计算时修改公式中 V_{S7} 即可（带入实际试剂七使用体积）；

②乙酰化反应过程较为剧烈，建议使用带盖密封性较好的冻存管或玻璃试管作为反应容器，请确保无橡胶等易腐蚀材质（或不与橡胶材质接触），以免造成泄漏；

③称取样本时重量范围可参考 4-10 mg 范围内均可，将样本具体称量质量带入公式 W 即可；

④为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

boxbio
Manufactured and Distributed by
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.
Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China
TEL: 400-805-8228
E-MAIL: techsupport@boxbio.cn
Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.