

木质素含量测定说明书

(微板法 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 |
|------|--------------|------|
| 试剂一 | 液体 5mL×1 瓶 | 4℃保存 |
| 试剂二 | 液体 20mL×1 瓶 | 4℃保存 |
| 试剂三 | 液体 3.5mL×1 瓶 | 4℃保存 |

三、所需的仪器和用品:

酶标仪、96 孔板、低温离心机、水浴锅、移液器、蒸馏水、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 1.5mg 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%乙醇震荡混匀 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 酶标仪预热 30 min,设置温度在 25℃,设定波长到 280nm。
- ② 选用螺旋盖式 2mL 的 EP 管,按照下表加样:

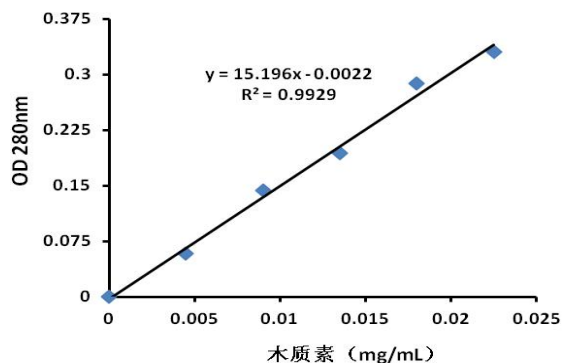
| 试剂 (μL) | 测定管 | 空白管 |
|--|-----------|-----|
| | 样本制备得到的沉淀 | |
| 试剂一 | 100 | 100 |
| 沿管壁缓缓加入,充分混匀,50℃水浴 2h,每隔 15min 震荡一次,然后冷却至室温。 | | |
| 试剂二 | 400 | 400 |
| 试剂三 | 70 | 70 |
| 振荡充分混匀,加冰乙酸定容至 1mL (即为待检混合液)。 | | |
| 室温下 5000rpm 离心 5min,取 200μL 于 96 孔 UV 板中,测定 280nm 下吸光值 A。分别记为 A 空白管和 A 测定管, $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}$ 。 | | |

【注】若 A 测定管大于 1.8,需用冰乙酸对待检混合液进行稀释(空白管

和测定管一起稀释)，然后稀释倍数 D 代入计算公式计算。

五、结果计算：

1、标准曲线方程： $y = 15.196x - 0.0022$ ；x 为标准品浓度，y 为 ΔA 。



2、按样本重量计算：

$$\begin{aligned} \text{木质素 (mg/g 重量)} &= [(\Delta A + 0.0022) \div 15.196] \times V1 \div W \times D \\ &= 0.0658 \times (\Delta A + 0.0022) \div W \times D \end{aligned}$$

V1----定容后总体积，1mL；

W----样本重量，1.5mg= 1.5×10^{-3} g。