

## 叶绿素(Chlorophyll)检测试剂盒(微板法)

### 产品简介:

叶绿体是光合作用的细胞器，在光合作用研究中，常需要用提取的叶绿体展开下游研究工作。叶绿体中所含的色素主要有两大类，叶绿素(包括叶绿素 a 和叶绿素 b)和类胡萝卜素(包括胡萝卜素和叶黄素)，它们与类囊体膜上的蛋白质结合，成为色素蛋白复合体，其中叶绿素又称叶绿体色素(Chlorophyll)。

叶绿素(Chlorophyll)检测试剂盒(微板法)检测原理是叶绿素不溶解于水，而溶于有机溶剂，以有机溶剂粗提叶绿素，根据朗伯-比尔定律，某有色溶液的吸光度( $A$ )与其中溶质浓度( $C$ )和液层厚度( $L$ )成正比，即  $A = \alpha CL$ ，其中 $\alpha$ 为比例常数，当溶液浓度以百分比浓度为单位，层液厚度为 1cm 时， $\alpha$ 为该物质的吸光系数。在本试剂盒情况下，叶绿素 a 和叶绿素 b 在 665nm、649nm 处有最大吸收波，根据经验公式可计算出叶绿素 a、叶绿素 b 及总叶绿素含量。该试剂盒主要用于植物组织中叶绿素的提取以及定量检测叶绿素 a、叶绿素 b 及总叶绿素含量。该试剂仅用于科研领域，不宜用于临床诊断或其他用途。

### 产品组成:

名称 \ 编号	ADS112P0	ADS112P1	Storage
	50T	100T	
试剂(A): Chlorophyll Assay buffer	530ml	2×530ml	RT
试剂(B): 提取粉剂	3g	6g	RT
使用说明书	1 份		

### 自备材料:

- 1、研钵或匀浆器
- 2、离心管
- 3、滤纸或纱布
- 4、96 孔板、酶标仪

## 操作步骤(仅供参考)：

### 1、叶绿素提取：

①取菠菜或其他植物新鲜叶片，洗净，擦干，去中脉，称取剪碎的新鲜样品 0.1g，置于研钵或匀浆器，加入少量提取粉剂(约 50mg)和 1ml Chlorophyll Assay buffer，研磨或匀浆成液态。

②将研磨液或匀浆液转移至 10ml 离心管，用少量 Chlorophyll Assay buffer 冲洗研钵或匀浆器数次，最后连残渣一同倒入 10ml 离心管，补加 Chlorophyll Assay buffer 至 10ml，混匀，避光放置 5min-2h。

(注：也可将组织剪碎，加入 Chlorophyll Assay buffer，避光放置 12~36h，期间晃动数次，使组织与提取试剂充分接触，当组织接近白色，即表示色素提取完成，可直接进行测定。)

2、观察底部组织残渣接近于白色，即为提取完全，如果仍有较多组织颜色，应再加入 Chlorophyll Assay buffer 继续避光放置。

3、滤纸或三层纱布过滤，留取滤液，即为叶绿素粗提液。

4、测定：取叶绿素粗提液加入 96 孔板，以 Chlorophyll Assay buffer 调零，酶标仪测定粗提液在 665nm、649nm 处吸光度( $A_{665}$ 、 $A_{649}$ )。

### 计算：

$$\text{叶绿素 a 含量(mg/g)} = C_a \times V \times N / (W \times 1000)$$

$$\text{叶绿素 b 含量(mg/g)} = C_b \times V \times N / (W \times 1000)$$

$$\text{总叶绿素含量(mg/g)} = C_T \times V \times N / (W \times 1000)$$

$$\text{式中： } C_a = 13.95 \times A_{665} - 6.88 \times A_{649} (\text{mg/L})$$

$$C_b = 24.96 \times A_{649} - 7.32 \times A_{665} (\text{mg/L})$$

$$C_T = 6.63 \times A_{665} + 18.08 \times A_{649} (\text{mg/L})$$

$$V = \text{叶绿素粗提液体积(ml)} = 10(\text{ml})$$

N = 稀释倍数

W = 样品鲜重或干重(g)

1000 = ml 与 L 的单位换算

### 注意事项：

1、 为了避免叶绿素见光分解，操作时应尽量避光，研磨或匀浆时应尽量缩短时间。

2、 测定吸光度值大于 1 时，可适当稀释后再行测定。

- 3、 Chlorophyll Assay buffer 易挥发，不用时需拧紧瓶盖。
- 4、 叶绿素粗提液不能出现浑浊现象，否则应重新过滤。
- 5、 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

**有效期：** 12 个月有效。



**附：** 我公司用新鲜的绿萝叶片做样品试验：取 0.3g 去除中脉，加入 2ml 试剂 A 和 50mg 试剂 B，用玻璃匀浆器充分匀浆，静置 30s~1min，上层匀浆液倒入干净的 50ml 离心管中，再次加入 2ml 试剂 A，充分匀浆，反复三次，至匀浆器底部组织残渣接近白色，即提取完成。冲洗匀浆器，合并入离心管中，取滤纸放入玻璃漏斗，用试剂 A 湿润滤纸，倒入匀浆液，用干净的 50ml 离心管接收滤液，并用试剂 A 冲洗滤纸上的色素，尽可能避免色素残留，减少实验误差。过滤终止补加试剂 A 至总体积 50ml。另取 0.3g 作为对照，不研磨，直接提取。2h 后用试剂 A 调零，一同检测吸光度值。操作及检测结果见下表：

ml	试剂 A	研磨提取液	浸提提取液	665nm	649nm	N
调零管	2			0	0	-
A/2	1	1		0.353	0.165	2
A		2		0.718	0.338	1
B/2	1		1	0.111	0.052	2
B			2	0.220	0.103	1

计算结果如下：

单位	mg/L			mg/g		
	Ca	Cb	Ct	叶绿素 a	叶绿素 b	总叶绿素
A/2	3.789	1.534	5.324	1.263	0.511	1.775
A	7.691	3.181	10.871	1.282	0.530	1.812
B/2	1.191	0.485	1.676	0.397	0.162	0.559
B	2.360	0.960	3.321	0.393	0.160	0.553