

叶绿素(Chlorophyll)检测试剂盒(比色法)

产品简介:

叶绿体(Chloroplast)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,成为色素蛋白复合物,其中叶绿素又称叶绿体色素(Chlorophyll)。

叶绿素(Chlorophyll)检测试剂盒(比色法)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 α 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, α 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	ADS113P0	Storage
	50T	
试剂(A): Chlorophyll Assay buffer	530ml	RT
试剂(B): 提取粉剂	3g	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、 比色杯
- 5、 分光光度计

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、Chlorophyll 测定：取叶绿素粗提液加入光径为 1cm 的比色杯，以 Chlorophyll Assay buffer 调零，分光光度计测定粗提液在 665nm、649nm 处吸光度(A_{665} 、 A_{649})。

计算：

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

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

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

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

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

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

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

$$N = \text{稀释倍数}$$

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，直接浸提。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