

## 类胡萝卜素(Carotenoid)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)。类胡萝卜素是一种脂溶性且具有营养特性的化合物,给植物和动物提供天然色素,是重要的抗氧化剂,并有能力转换为必需维生素。类胡萝卜素可预防细胞,组织和基因损毁,增强身体免疫系统,抵御感染,减少癌症风险,保护心脏。

类胡萝卜素(Carotenoid)检测试剂盒(微板法)检测原理是类胡萝卜素不溶解于水,而溶于有机溶剂,以有机溶剂粗提类胡萝卜素,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、叶绿素 b、类胡萝卜素在 665nm、649nm、470nm 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、总叶绿素、类胡萝卜素含量。该试剂盒主要用于植物组织中叶绿素、类胡萝卜素的提取以及以酶标仪定量检测叶绿素 a、叶绿素 b、总叶绿素、类胡萝卜素含量。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	ADS114P0	Storage
	100T	
试剂(A): Carotenoid Assay buffer	2×530ml	RT
试剂(B): 提取粉剂	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、类胡萝卜素提取:

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 Carotenoid 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 Carotenoid 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 Carotenoid Assay buffer 至 10ml,混匀,避光放置 5min-2h。

(注:也可将组织剪碎,加入 Carotenoid 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 Carotenoid Assay buffer 继续避光放置。

3、滤纸或三层纱布过滤,留取滤液,即为类胡萝卜素粗提液。

4、Carotenoid 测定:取类胡萝卜素粗提液加入 96 孔板,以 Carotenoid Assay buffer 调零,酶标仪测定粗提液在 665nm、649nm、470nm 处吸光度( $A_{665}$ 、 $A_{649}$ 、 $A_{470}$ )。

### 计算:

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

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

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

$$\text{类胡萝卜素含量(mg/g)} = C_C \times V \times N / (W \times 1000)$$

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

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

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

$$C_C = (1000 \times A_{470} - 2.05 \times C_a - 114.8 \times C_b) / 245 (\text{mg/L})$$

$$= (1000 \times A_{470} - 2851.304 \times A_{649} + 811.7385 \times A_{665}) / 245 (\text{mg/L})$$

$$V = \text{类胡萝卜素粗提液体积(ml)} = 10(\text{ml})$$

$$N = \text{稀释倍数}$$

$$W = \text{样品鲜重或干重(g)}$$

$$1000 = \text{ml 与 L 的单位换算}$$

### 注意事项:

- 1、为避免叶绿素和类胡萝卜见光分解,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、Carotenoid Assay buffer 易挥发，不用时需拧紧瓶盖。
  - 4、色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。

艾迪生

**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列表格：

ml	试剂 A	研磨提取液	浸提提取液	665nm	649nm	470nm	N
调零管	2			0	0	0	-
A/2	1	1		0.353	0.165	0.587	2
A		2		0.718	0.338	1.184	1
B/2	1		1	0.111	0.052	0.179	2
B			2	0.220	0.103	0.355	1

计算结果如下：

单位	mg/L				mg/g			
	Ca	Cb	Ct	Cc	叶绿素 a	叶绿素 b	总叶绿素	类胡萝卜素
A/2	3.789	1.534	5.324	1.645	1.263	0.511	1.775	0.548
A	7.691	3.181	10.871	3.278	1.282	0.530	1.812	0.546
B/2	1.191	0.485	1.676	0.493	0.397	0.162	0.559	0.164
B	2.360	0.960	3.321	0.979	0.393	0.160	0.553	0.163