

类胡萝卜素(Carotenoid)检测试剂盒(比色法)

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(比色法)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 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，在该试剂盒情况下叶绿素 a、叶绿素 b、类胡萝卜素分别在 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，主要用于植物组织中叶绿素、类胡萝卜素的提取以及以分光光度计定量检测叶绿素 a、叶绿素 b、总叶绿素、类胡萝卜素含量。该试剂盒仅用于科研领域，不适用于临床诊断或其他用途。

产品组成:

名称 \ 编号	ADS115P0	Storage
名称	50T	
试剂(A): Carotenoid 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、离心管、滤纸或纱布
- 2、离心机、比色杯、分光光度计

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, 如果仍有较多组织颜色, 应继续浸提至组织残渣颜色接近于白色。

2、滤纸或三层纱布过滤, 留取滤液, 也可采用 4000r/min 离心 5min, 取上清液待测。

3、Carotenoid 测定:

①新鲜植物叶片或其他绿色植物组织(含叶绿体)类胡萝卜素含量测定:

分光光度计开机预热 30min 以上, 调节多波长至 665nm、649nm 和 470nm; 取类胡萝卜素提取液加入光径为 1cm 比色皿中, 以 Carotenoid Assay Buffer 调零, 分别用分光光度计测定提取液在 665nm、649nm、470nm 处的吸光度(A_{665} 、 A_{649} 、 A_{470})。

②黄色或其他非绿色植物组织(不含叶绿体)类胡萝卜素含量测定:

分光光度计开机预热 30min 以上, 调节波长至 440nm; 取类胡萝卜素提取液加入光径为 1cm 比色皿中, 以 Carotenoid Assay Buffer 调零, 用分光光度计测定提取液在 440nm 处吸光度(A_{440})。

计算:

1、新鲜植物叶片或其他绿色植物组织(含叶绿体)类胡萝卜素含量计算: 叶绿素 a 含量 (mg/g) = $C_a \times V \times N / (W \times 1000)$

叶绿素 b 含量 (mg/g) = $C_b \times V \times N / (W \times 1000)$ 总叶绿素含量 (mg/g) = $C_T \times V \times N / (W \times 1000)$ 类胡萝卜素含量 (mg/g) = $C_C \times V \times N / (W \times 1000)$ 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 = 类胡萝卜素提取液体积(ml) = 10(ml) N = 稀释倍数

W = 样品鲜重或干重(g) 1000 = ml 与 L 的单位换算

2、黄色或其他非绿色植物组织(不含叶绿体)类胡萝卜素含量计算:

$$\text{类胡萝卜素含量 (mg/g)} = A_{440} / (250 \times 1) \times V \times N \times 1000 / W = 0.04 \times A_{440} \times N / W$$

式中: V = 类胡萝卜素提取液体积 = 0.01(L)

N = 稀释倍数

W = 样品鲜重或干重(g)

250 = 类胡萝卜素经验消光系数(L/g/cm)

1000=g 与 mg 的单位换算

1=比色皿的光径(cm)

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、若不确定组织中是否有叶绿素影响，可取提取液用分光光度计在波长 600-700nm 下进行波长扫描，若有波峰，则证明样品中有叶绿素，反之则无。
- 3、当样品吸光值大于 1 时，可适当稀释后再进行测定，计算时乘以稀释倍数。
- 4、若采用聚苯乙烯材质的 96 孔板测定，则应在加样 5min 内测定完毕。
- 5、Carotenoid Assay Buffer 易挥发，不用时需拧紧瓶盖。
- 6、色素提取液不能出现浑浊现象，否则应重新过滤。
- 7、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。