



叶绿素(Chlorophyll)检测试剂盒(比色法)

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,成为色素蛋白复合体,其中叶绿素又称叶绿体色素(Chlorophyll)。

源叶生物 叶绿素(Chlorophyll)检测试剂盒(比色法)检测原理是叶绿素不溶于水,而溶于有机溶剂,以有机溶剂提取叶绿素,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,在该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。该试剂盒仅用于科研领域,不适用于临床诊断或其他用途。

组成:

名称	编号	Storage
试剂(A): Chlorophyll Assay Buffer	R30354 50T	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、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,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、测定:分光光度计开机预热 30min 以上,调节多波长至 665nm 和 649nm;取叶绿素提取液加入光径为 1cm 的比色杯中,以 Chlorophyll Assay Buffer 调零,分别用分光光度计测定提取液在 665nm、649nm 处的吸光度 (A_{665} 、 A_{649})。

计算:

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

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

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

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

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

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

$$V = \text{叶绿素提取液体积(ml)} = 10(\text{ml})$$

$$N = \text{稀释倍数}$$

$$W = \text{样品鲜重或干重(g)}$$



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、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。
- 3、Chlorophyll Assay Buffer 易挥发，不用时需拧紧瓶盖。
- 4、叶绿素提取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。

附录: 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：



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

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

