

## 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,成为色素蛋白复合体,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 $\alpha$ 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。

### 产品组成:

名称	编号	BN27913 50T	Storage
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、离心管、滤纸或纱布、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。

- 2、滤纸或三层纱布过滤,留取滤液,也可采用离心 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：

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

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

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

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

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

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

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

$$N = \text{稀释倍数}$$

$$W = \text{样品鲜重或干重(g)}$$

$$1000 = \text{ml 与 L 的单位换算}$$

### 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。
- 6、 试剂开封后请尽快使用，以防影响后续实验效果。

**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:

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