



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

叶绿素(Chlorophyll)检测试剂盒(微板法)

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)。

源叶生物 叶绿素(Chlorophyll)检测试剂盒(微板法)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,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	R30353 50T	R30353 100T	Storage
试剂(A): Chlorophyll Assay Buffer	530ml	2×530ml	RT
试剂(B): 提取粉剂	3g	6g	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、96 孔板、酶标仪



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

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:酶标仪开机预热 30min 以上,调节多波长至 665nm 和 649nm;取叶绿素提取液 200 μ l 加入 96 孔板中,以 Chlorophyll Assay Buffer 调零,分别用酶标仪测定提取液在 665nm、649nm 处吸光度(A_{665} 、 A_{649})。

计算:

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

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

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

$$\text{式中: } C_a = (13.95 \times A_{665} - 6.88 \times A_{649}) / 0.6 = 23.25 \times A_{665} - 11.467 \times A_{649} \text{ (mg/L)}$$

$$C_b = (24.96 \times A_{649} - 7.32 \times A_{665}) / 0.6 = 41.6 \times A_{649} - 12.2 \times A_{665} \text{ (mg/L)}$$

$$C_T = (6.63 \times A_{665} + 18.08 \times A_{649}) / 0.6 = 11.05 \times A_{665} + 30.133 \times A_{649} \text{ (mg/L)}$$

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

$$N = \text{稀释倍数}$$

$$W = \text{样品鲜重或干重(g)}$$

$$1000 = \text{ml 与 L 的单位换算}$$



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

0.6=200 μ l 提取液在酶标板中的光径(cm)

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

