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

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。在本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：

编号 / 名称	R30355 100T	Storage
试剂(A): Carotenoid Assay Buffer	2×510ml	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、离心管、滤纸或纱布、离心机、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，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：

酶标仪开机预热 30min 以上，调节多波长至 665nm、649nm 和 470nm；取类胡萝卜素提取液 200μl 加入 96 孔板中，以 Carotenoid Assay Buffer 调零，分别用酶标仪测定提取液在 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：

酶标仪开机预热 30min 以上，调节波长至 440nm；取类胡萝卜素提取液 200μl 加入 96 孔板中，以 Carotenoid Assay Buffer 调零，用酶标仪测定提取液在 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×V×N/(W×1000)

叶绿素 b 含量(mg/g)=C_b×V×N/(W×1000)

总叶绿素含量(mg/g)=C_T×V×N/(W×1000)

类胡萝卜素含量(mg/g)=C_C×V×N/(W×1000)

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

C_b=(24.96×A_{649}-7.32×A_{665})/0.6=41.6×A_{649}-12.2×A_{665} (mg/L)

C_T=(6.63×A_{665}+18.08×A_{649})/0.6=11.05×A_{665}+30.133×A_{649} (mg/L)

C_C=(1000×A_{470}/0.6 -2.05×C_a -114.8×C_b)/245(mg/L)

=(1000×A_{470} -2851.304×A_{649} +811.7385×A_{665})/147(mg/L)

=6.8×A_{470} -19.397×A_{649} +5.522×A_{665} (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

0.6=200μl 提取液在酶标板中的光径(cm)

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：

类胡萝卜素含量(mg/g)= A_{440}/(250×0.6)×V×N×1000/W=0.067 ×A_{440}×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

0.6=200μl 提取液在酶标板中的光径(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、若不确定组织中有无叶绿素影响，可取提取液用分光光度计在波长 600-700nnm 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、Carotenoid Assay Buffer 易挥发，不用时需拧紧瓶盖。

5、色素提取液不能出现浑浊现象，否则应重新过滤。

6、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

7、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。