

植物叶绿素含量检测试剂盒说明书

微量法

注意：本产品试剂有所变动，请注意并严格按照该说明书操作。

货号：BC0995

规格：100T/96S

产品组成：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体 85 mL×2 瓶	2-8℃保存
试剂一	粉剂×1 瓶	2-8℃保存

产品说明：

植物叶绿素广泛存在于绿色植物组织中，是光合作用的细胞器。其含量与光合作用、营养状况密切相关，是反应植物生长状况的重要指标。

叶绿素a和叶绿素b在645nm和663nm处有最大吸收，根据经验公式可计算得叶绿素a和叶绿素b以及总叶绿素的含量。

注意：实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、台式离心机、微量玻璃比色皿/96孔板（建议使用非聚苯乙烯材质的96孔板）、可调式移液枪、天平、研钵/匀浆器、锡箔纸、EP管。

操作步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

- 新鲜植物叶片或其它绿色组织用蒸馏水洗干净，吸干表面水分，去掉中脉。
- 按照组织质量(g)：提取液体积(mL)为 1：5~15 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1.5mL 提取液），少量试剂一(约 10mg)，在黑暗或弱光条件下充分研磨，转入 2mL EP 管中。
- 置于黑暗条件下或者包上锡箔纸常温浸提 30min，观察底部组织残渣接近于白色则提取完全（期间可以颠倒混合数次，促进提取完全），若组织残渣未完全变白，继续浸提至组织残渣颜色接近于白色。

注意：1. 若上层浸提液有残渣，可常温下 4000r/min 离心 5min，再取上清液检测。

2. 提取完成后，请立即测定。浸提液挥发，叶绿素降解等因素均会影响测定结果，尽快测定可降低干扰。

3. 提取液有挥发性，若研磨后体积变少，可最后用提取液补足至 1.5mL。

二、测定步骤

- 分光光度计/酶标仪预热30min以上，调节波长至645nm和663nm，分光光度计用提取液调零。
- 取上层浸提液200μL于微量玻璃比色皿/96孔板中（若使用聚苯乙烯材质的96孔板，加样后在5min内尽快测定完成），测定663nm和645nm处吸光值，分别记为 A_{663} 和 A_{645} 。

三、叶绿素的计算





叶绿素a含量 (mg/g 质量) = $(21.2 \times A_{663} - 4.48 \times A_{645}) \times V_{\text{提}} \times F \div W \div 1000 = 0.0015 \times (21.2 \times A_{663} - 4.48 \times A_{645}) \times F \div W$

叶绿素b含量 (mg/g 质量) = $(38.2 \times A_{645} - 7.8 \times A_{663}) \times V_{\text{提}} \times F \div W \div 1000 = 0.0015 \times (38.2 \times A_{645} - 7.8 \times A_{663}) \times F \div W$

叶绿素总含量 (mg/g 质量) = $(33.7 \times A_{645} + 13.4 \times A_{663}) \times V_{\text{提}} \times F \div W \div 1000 = 0.0015 \times (33.7 \times A_{645} + 13.4 \times A_{663}) \times F \div W$

V_提: 提取液体积, 1.5mL; F: 稀释倍数; W: 样本质量, g。

注意事项:

- 1、叶绿素对光敏感, 研磨和提取等操作尽量避光或者在弱光下进行。
- 2、若用研钵进行提取, 建议用提取液冲洗研钵至所有的绿色物质均被转移至EP管中, 记录最终V_{提取}用量, 注意同步修改计算公式。
- 3、测定时若吸光值超过1.5, 可使用提取液进行适当稀释; 当吸光值小于0.05时, 可以适当减少V_{提取}的用量, 或增加样本组织量, 注意同步修改计算公式。

实验实例:

样本	质量 (g)	稀释倍数	A ₆₄₅	A ₆₆₃	叶绿素 a 含量	叶绿素 b 含量	叶绿素总含量	单位
柳叶	0.1057	10	0.293	0.715	1.965	0.797	2.761	mg/g 质量
玉兰叶	0.1028	10	0.196	0.455	1.279	0.575	1.853	mg/g 质量

注: 1. 柳叶、玉兰叶前处理过程: 加入 1.5mL 提取液在避光条件下充分研磨, 常温避光浸提 30min, 期间振荡混匀 2-3 次。提取结束后, 4000r/min 离心 5min, 取上清液检测。

2. 使用 96 孔石英板进行测定 (官网有售, 货号 YA0608、YA0609)。

相关发表文献:

- [1] Sun J, Jia Q, Li Y, Zhang T, Chen J, Ren Y, Dong K, Xu S, Shi NN, Fu S. Effects of Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Biochar on Growth, Nutrient Absorption, and Physiological Properties of Maize (*Zea mays* L.). *J Fungi* (Basel). 2022 Dec 5;8(12):1275. doi: 10.3390/jof8121275. PMID: 36547608; PMCID: PMC9782859.
- [2] Yang M, Wang M, Zhou M, Zhang Y, Yu K, Wang T, Bu T, Tang Z, Zheng T, Chen H. ABA and SA Participate in the Regulation of Terpenoid Metabolic Flux Induced by Low-Temperature within *Conyza blinii*. *Life* (Basel). 2023 Jan 29;13(2):371. doi: 10.3390/life13020371. PMID: 36836728; PMCID: PMC9959218.
- [3] Yang M, Huang DY, Tian YB, Zhu QH, Zhang Q, Zhu HH, Xu C. Influences of different source microplastics with different particle sizes and application rates on soil properties and growth of Chinese cabbage (*Brassica chinensis* L.). *Ecotoxicol Environ Saf*. 2021 Oct 1;222:112480. doi: 10.1016/j.ecoenv.2021.112480. Epub 2021 Jun 30. PMID: 34217116.
- [4] Zhang Y, Shu H, Mumtaz MA, Hao Y, Li L, He Y, Jin W, Li C, Zhou Y, Lu X, Fu H, Wang Z. Transcriptome and Metabolome Analysis of Color Changes during Fruit Development of Pepper (*Capsicum baccatum*). *Int J Mol Sci*. 2022 Oct 19;23(20):12524. doi: 10.3390/ijms232012524. PMID: 36293402; PMCID: PMC9604368.

相关系列产品:

BC2210/BC2215 3-磷酸甘油醛脱氢酶 (GAPDH) 活性检测试剂盒

BC4330/BC4335 植物类胡萝卜素含量检测试剂盒



本产品仅供科学研究使用。请勿用于临床、诊断、食品、化妆品检测等用途。

For research use only. Do not use for clinical, diagnostic, food, cosmetic testing and other purposes.