

植物类胡萝卜素含量检测试剂盒说明书

可见分光光度法

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：BC4330

规格：50T/48S

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×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	粉剂×1 瓶	2-8℃保存

产品说明：

类胡萝卜素(carotenoid)是一类重要的天然色素的总称，普遍存在于动物、高等植物、真菌、藻类的黄色、橙红色或红色的色素之中。类胡萝卜素是体内维生素 A 的前体，同时还具有抗氧化、免疫调节、抗癌、减轻心血管疾病及着色剂等作用。

植物的类胡萝卜素存在于各种黄色质体或有色质体内；如黄叶，黄色花卉，黄色和红色的果实和黄色块根等组织，样本通过溶剂萃取，分离提取类胡萝卜素，在 440±10nm 处有特殊吸收峰。

大部分高等植物和藻类微生物的叶绿体内也含有类胡萝卜素，类胡萝卜素主要吸收蓝紫光，而叶绿素 a 和叶绿素 b 既吸收红光又可吸收蓝紫光。所以针对含叶绿体的组织，为排除叶绿素 a 和叶绿素 b 对类胡萝卜素的干扰，根据经验公式先计算出叶绿素 a 和叶绿素 b 的含量，再进一步得出类胡萝卜素的含量；针对不含叶绿素的组织可以直接根据类胡萝卜素的经验消光系数进行计算。

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、台式离心机、1mL玻璃比色皿、天平、可调式移液枪、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

A、黄色或其他非绿色组织（不含叶绿体）类胡萝卜素含量测定步骤：

- 分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 440nm，用提取液调零。





2、取上层浸提液 1mL 于 1mL 玻璃比色皿中，测定 440nm 处吸光值，记为 A_{440} 。

B、新鲜植物叶片或其他绿色组织（含叶绿体）类胡萝卜素含量测定步骤：

1、分光光度计预热 30min 以上，调节多波长至 470nm、646nm 和 663nm，用提取液调零。

2、取上层浸提液 1mL 于 1mL 玻璃比色皿中，测定 470nm、646nm 和 663nm 处吸光值，分别记为 A_{470} 、 A_{646} 和 A_{663} 。

三、类胡萝卜素含量的计算：

A、黄色或其他非绿色组织（不含叶绿体）类胡萝卜素含量的计算公式：

类胡萝卜素含量 (mg/g 质量) = $A_{440} \div (\epsilon \times d) \times V \text{ 样总} \times 1000 \div W \times F = 0.006 \times A_{440} \times F \div W$

V 样总：提取液总体积，0.0015L；1000：单位换算系数，1g=1000mg； ϵ ：类胡萝卜素经验消光系数，250 L/g/cm；

d：比色皿光径，1 cm；F：稀释倍数；W：样本质量，g。

B、新鲜植物叶片或其他绿色组织（含叶绿体）类胡萝卜素含量的计算公式：

$C_a \text{ (mg/L)} = 12.21 \times A_{663} - 2.81 \times A_{646}$

$C_b \text{ (mg/L)} = 20.13 \times A_{646} - 5.03 \times A_{663}$

类胡萝卜素浓度： $C_c \text{ (mg/L)} = (1000 \times A_{470} - 3.27 \times C_a - 104 \times C_b) \div 229 = 4.367 \times A_{470} - 0.014 \times C_a - 0.454 \times C_b$

类胡萝卜素含量 (mg/g 质量) = $C_c \times V \text{ 提取} \times F \div W = 0.0015 \times C_c \times F \div W$

V 提取：提取液体积，0.0015L；F：稀释倍数；W：样本质量，g。

注意事项：

1. 若不确定组织中有无叶绿素影响，可取样本提取液采用分光光度计在波长 400-700nm 下进行扫描，看波长 640-670nm 之间有无波峰，有波峰则为有叶绿素，反之则无。
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 1.2，可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。
4. 测定大量样本时，注意比色池中用来调零校正的比色皿中的提取液的液面位置，防止挥发造成误差。

实验实例：

样本	质量 (g)	稀释倍数	A_{440}	类胡萝卜素含量	单位
胡萝卜	0.1006	2	0.791	0.094	mg/g 质量
玉米籽粒	0.1045	1	0.508	0.029	mg/g 质量

注：1. 胡萝卜、玉米籽粒前处理过程：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 1mL 玻璃比色皿进行测定。

相关发表文献：

[1] Song K, Zhou Z, Huang Y, Chen L, Cong W. Multi-omics insights into the mechanism of the high-temperature tolerance in a thermotolerant *Chlorella sorokiniana*. *Bioresour Technol.* 2023 Dec;390:129859. doi: 10.1016/j.biortech.2023.129859. Epub 2023 Oct 12. PMID: 37832851.

[2] Jia W, Wu X, Liu N, Xia Z, Shi L. Quantitative fusion omics reveals that refrigeration drives methionine degradation through perturbing 5-methyltetrahydropteroyltrimethylglutamate-homocysteine activity. *Food Chem.* 2023 May



30;409;135322. doi: 10.1016/j.foodchem.2022.135322. Epub 2022 Dec 24. PMID: 36584532.

[3] Zhang J, Yang Q, Yue W, Yang B, Zhou W, Chen L, Huang X, Zhang W, Dong J, Ling J. Seagrass *Thalassia hemprichii* and associated bacteria co-response to the synergistic stress of ocean warming and ocean acidification. *Environ Res.* 2023 Nov 1;236(Pt 1):116658. doi: 10.1016/j.envres.2023.116658. Epub 2023 Jul 16. PMID: 37454799.

[4] Jue DW, Sang XL, Li ZX, Zhang WL, Liao QH, Tang J. Determination of the effects of pre-harvest bagging treatment on kiwifruit appearance and quality via transcriptome and metabolome analyses. *Food Res Int.* 2023 Nov;173(Pt 1):113276. doi: 10.1016/j.foodres.2023.113276. Epub 2023 Jul 13. PMID: 37803588.

[5] 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:

BC0990/BC0995 植物叶绿素含量检测试剂盒

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

BC3400/BC3405 焦磷酸: 果糖-6-磷酸-1-磷酸转移酶活性检测试剂盒

