

植物叶绿素含量检测试剂盒说明书

微量法

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×1 瓶（自备）	2-8℃保存
试剂一	粉剂×1 瓶	2-8℃保存

溶液的配制：

1、提取液：自备无水乙醇和丙酮，将无水乙醇：丙酮（V：V）=1:2 混合待用，提供一个 125mL 空瓶。

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、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、蒸馏水、10mL试管、无水乙醇（>98%，AR）和丙酮（>98%，AR）。

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）

1. 取新鲜植物叶片或其它绿色组织，用蒸馏水洗干净，然后吸干表面水分，去掉中脉，称取约 0.1g，剪碎放入研钵或匀浆器中。

2. 加入 1mL 蒸馏水，少量试剂一（约 10mg），在黑暗或弱光条件下充分研磨，转入 10mL 试管中。

3. 用提取液冲洗研钵，将所有冲洗液转入 10mL 试管中，用提取液定容至 10mL，置于黑暗条件下或者包上锡箔纸浸提 3h，观察底部组织残渣颜色接近于白色则提取完全，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。

二、测定步骤

1、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。

2、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，请在5min内尽快测定完成），测定663nm和645nm处吸光值，分别记为A₆₆₃和A₆₄₅。

三、叶绿素的计算

叶绿素a含量（mg/g 质量）= $(21.2 \times A_{663} - 4.48 \times A_{645}) \times V_{\text{提}} \times F \div W \div 1000 = 0.01 \times (21.2 \times A_{663} - 4.48 \times A_{645}) \times F \div W$

叶绿素b含量（mg/g 质量）= $(38.2 \times A_{645} - 7.8 \times A_{663}) \times V_{\text{提}} \times F \div W \div 1000 = 0.01 \times (38.2 \times A_{645} - 7.8 \times A_{663}) \times F \div W$





$$\begin{aligned}\text{叶绿素总含量 (mg/g 质量)} &= (33.7 \times A_{645} + 13.4 \times A_{663}) \times V_{\text{提}} \times F \div W \div 1000 \\ &= 0.01 \times (33.7 \times A_{645} + 13.4 \times A_{663}) \times F \div W\end{aligned}$$

V_提: 提取液体积, 10mL; 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、一定要浸提至组织残渣完全变白, 否则提取不充分。
- 3、用提取液冲洗研钵一定要冲洗至所有的绿色物质被转移至EP管。
- 4、测定时吸光值超过1, 可进行适当稀释; 当吸光值小于0.05时, 可以适当减少V提取的用量, 注意计算公式中改变V提取数值。
- 5、若使用聚苯乙烯材质的96孔板进行测定, 请在5min内尽快测定完成。

实验实例:

取0.1g吊篮加入1mL蒸馏水, 少量试剂一 (约10mg), 在黑暗或弱光条件下充分研磨, 转入10mL试管中。用提取液定容至10mL, 置于黑暗条件下或者包上锡箔纸浸提3h, 之后按照操作步骤, 测得 $A_{663}=0.637$, $A_{645}=0.27$, 计算叶绿素a含量 (mg/g 质量) $=0.01 \times (21.2 \times A_{663} - 4.48 \times A_{645}) \times F \div W = 0.01 \times (21.2 \times 0.637 - 4.48 \times 0.27) \div W = 1.23 \text{ mg/g 质量}$; 叶绿素b含量 (mg/g 质量) $=0.01 \times (38.2 \times A_{645} - 7.8 \times A_{663}) \times F \div W = 0.01 \times (38.2 \times 0.27 - 7.8 \times 0.637) \div W = 0.53 \text{ mg/g 质量}$; 叶绿素总含量 (mg/g 质量) $=0.01 \times (33.7 \times A_{645} + 13.4 \times A_{663}) \times F \div W = 0.01 \times (33.7 \times 0.27 + 13.4 \times 0.637) \div W = 1.76 \text{ mg/g 质量}$ 。

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

