

叶绿素含量测定试剂盒说明书

(货号:G0601W 微板法 96 样)

一、产品简介:

叶绿素含量是植物生长过程中一个重要的生理指标,由于其对周围环境很敏感,并与植物的光合作用、营养吸收等密切相关,被广泛作为植物生长的常规测定指标。

根据叶绿素提取液对可见光谱的吸收,在 649nm 和 665nm 处测定叶绿素提取物的吸光值,然后利用经验公式计算出样品中叶绿素 a 含量、叶绿素 b 含量、叶绿素总含量。

二、试剂盒组分与配制:

试剂名称	规格	保存要求
试剂一	粉剂×1 瓶	4℃保存
乙醇(自备)	1000mL×1 瓶	4℃保存

抽提 Buffer 配制:(体积比)乙醇:蒸馏水=95:5

三、所需的仪器和用品:

酶标仪、96 孔板、天平、10mL 玻璃试管、锡箔纸、无水乙醇。

四、叶绿素含量的测定:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定,了解本批样品情况,熟悉实验流程,避免实验样本和试剂浪费!

1、样本制备

- (1) 取新鲜植物叶片或其它绿色组织,去掉中脉。
- (2) 称约 0.1g 剪碎,用蒸馏水洗干净,然后加入 1mL 抽提 Buffer,少量试剂一(约 50mg),叶绿素对光敏感,务必在黑暗或弱光条件下充分研磨(难磨叶片可以添加少量石英砂助磨),然后转移至 10mL 玻璃试管。
- (3) 用抽提 Buffer 冲洗研钵,将所有冲洗液及研钵中所有的绿色物质转入 10mL 玻璃试管,用抽提 Buffer 补充至 10mL,玻璃试管置于黑暗条件下或者包上锡箔纸浸提 3h,观察试管底部组织残渣完全变白则提取完全,若组织残渣未完全变白,继续浸提至其完全变白。最后得到的澄清液体即为待检测的浸提液。

2、上机检测

分别取 200 μ L 浸提液和 200 μ L 抽提 Buffer 于 96 孔板,记为测定管和空白管,分别于 665nm 和 649nm 处读取吸光值 A, $\Delta A_{665}=(A_{\text{测定}}-A_{\text{空白}})_{665}$, $\Delta A_{649}=(A_{\text{测定}}-A_{\text{空白}})_{649}$ 。

【注】:若吸光值 A 超过 1,待检测的浸提液用抽提 buffer 稀释,计算公式乘以稀释倍数。

五、结果计算:

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

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

$$\text{叶绿素总含量 (mg/g 鲜重)} = C_T \times \frac{V \times D}{1000 \times W}$$

$$C_a = 13.95 \times \Delta A_{665} - 6.88 \times \Delta A_{649} \text{ (mg/L)}; \quad C_b = 24.96 \times \Delta A_{649} - 7.32 \times \Delta A_{665} \text{ (mg/L)};$$

$$C_T = 6.63 \times \Delta A_{665} + 18.08 \times \Delta A_{649} \text{ (mg/L)};$$

V---代表提取液体积, 10mL; D---代表稀释倍数, 未稀释即为 1;

W---代表样本质量, g