

植物叶绿素（Chlorophyll）含量检测试剂盒说明书

货号：RX886W96 规格：96 样 方法：酶标仪法

一、注意事项

- 1.使用前请通读一遍说明书再开始实验。酶标仪提前 30min 预热。
- 2.先取 2~3 个上清液较绿的样液进行上机检测，若吸光度值大于 1，需要使用提取液进行稀释，通常稀释 5~10 倍，直到吸光度值小于 1。
- 3.因丙酮易挥发，加样后尽快测定完成，若样品较多时，可分批进行加样检测。
- 4.本试剂盒仅用于科研。

二、产品组分

试剂名称	试剂规格	保存条件	备注
试剂一	粉剂 ×1	4°C	
试剂二	粉剂 ×1	4°C	
提取液	丙酮	4°C	自备

三、仪器和用品

酶标仪、96 孔板、移液器、天平、可降温离心机、超纯水/蒸馏水、自动研磨仪/研钵、10 mL 试管（使用方法二时需要）。

四、样品制备

将新鲜样品用蒸馏水洗干净，吸干表面水分，去掉中脉后备用。

五、测定步骤

方法一：本方法适用于使用自动研磨仪磨样。

- 1.提取液准备：将 15 mL 蒸馏水和 60 mL 丙酮，充分混匀于 4°C 预冷备用。
- 2.在 2 mL 研磨管内加入依次下列样品及试剂

试剂名称	测定管
样品 (g)	0.1
试剂一 (mg)	50
在管中加入磁珠或钢珠后，在黑暗或弱光条件下，使用研磨仪将样品充分研磨，研磨结束后，加入下列试剂	
提取液 (mL)	1.5 mL
于黑暗条件下或包上锡箔纸，在 4°C 环境下浸提 40 min，每隔 10 min 颠倒混匀一次。观察试管底部组织残渣完全变白则提取完全，若未完全变白，继续浸提至	

其完全变白。4000 g, 4°C离心 5 min, 取 200 μL 上清液于 96 孔板, 测定 663 nm 和 645 nm 处吸光值, 分别记为 A663 和 A645。

注意: 1.先取 2~3 个上清液较绿的样液进行上机检测, 若吸光度值大于 1, 需要使用提取液进行稀释, 通常稀释 5~10 倍, 直到吸光度值小于 1。

2.因丙酮易挥发, 加样后尽快测定完成, 若样品较多时, 可分批进行加样检测。

方法二: 本方法适用于使用研钵磨样。

1.提取液准备: 将 100 mL 蒸馏水和 400 mL 丙酮, 充分混匀于 4°C预冷备用。

2.在研钵内加入依次下列样品及试剂

试剂名称	测定管
样品 (g)	0.1
试剂一 (mg)	50
试剂二 (mg)	50
蒸馏水 (mL)	1

1.在黑暗或弱光条件下, 使用研钵将样品充分研磨, 结束后转入 10 mL 玻璃试管。

2.用提取液冲洗研钵, 将所有冲洗液转入玻璃试管, 用提取液补充至 10 mL 玻璃试管。置于黑暗条件下或包上锡箔纸 4°C环境下浸提 3 h, 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。

3.2000~4000 g, 4°C离心 5 min, 取上清液 200 μL 于 96 孔板, 测定 663 nm 和 645 nm 处吸光值, 分别记为 A663 和 A645。此方法可用分光光度计测定, 若用分光光度计测定吸光值, 将待测上清加到比色皿四分之三处, 且用提取液进行调零, 更换用过的比色皿时需用提取液润洗 2 次, 再用待测上清润洗 1 次。

注意: 1.先取 2~3 个上清液较绿的样液进行上机检测, 若吸光度值大于 1, 需要使用提取液进行稀释, 通常稀释 5~10 倍, 直到吸光度值小于 1。

2.因丙酮易挥发, 加样后尽快测定完成, 若样品较多时, 可分批进行加样检测。

六、计算公式

计算叶绿素 a 含量 (mg/g 鲜重) = $(12.7 \times A_{663} - 2.69 \times A_{645}) \times V_{\text{提}} \times D \div m \div 1000$

叶绿素 b 含量 (mg/g 鲜重) = $(22.9 \times A_{645} - 4.68 \times A_{663}) \times V_{\text{提}} \times D \div m \div 1000$

叶绿素总含量 (mg/g 鲜重) = $(20.21 \times A_{645} + 8.02 \times A_{663}) \times V_{\text{提}} \times D \div m \div 1000$

V 提: 提取液体积 (方法一 1.5 mL, 方法二 10 mL); D: 稀释倍数, 未稀释的

为 1；m：样本质量 g；1000：单位换算系数。

七、产品简介

植物叶绿素广泛存在于绿色植物组织中，其含量与光合作用、营养状况密切相关，是指示植物生长状况的重要指标。叶绿素 a 和叶绿素 b 在 645 nm 和 663 nm 处有最大吸收，根据公式可计算得叶绿素 a 和叶绿素 b 以及总叶绿素含量。