



植物叶绿素试剂盒说明书

(A147-1-1 分光光度比色法 50T/48 样)

一、测定原理:

叶绿素a和叶绿素b在663nm和645nm分别具有最大吸收峰,根据叶绿素提取液对可见光谱的吸收,利用分光光度计在最大吸收波长测定其吸光度,从而计算叶绿素a、叶绿素b和总叶绿素含量。

二、仪器材料(自备):

可见分光光度计及1cm光径比色皿、涡旋混匀器、10mL离心管、研钵、天秤、无水乙醇、丙酮和蒸馏水。

三、试剂组成:

试剂一:粉剂×1 瓶,4℃保存;

提取液配制:将无水乙醇和丙酮按照1:2(体积比)比例充分混匀为提取液待用。

四、操作步骤:

方法一:(液氮研磨)

- 1、取新鲜植物叶片(去掉中脉)或其他组织,蒸馏水清洗干净后用吸水纸吸干表面,加液氮避光条件下研磨成粉,用10mL离心管准确称取植物粉末约0.1g;
- 2、加入1mL蒸馏水,称取约50mg试剂一粉剂加入其中,混匀;
- 3、用提取液定容至5mL,混匀,避光静置3h以上(每隔一段时间涡旋混匀一次,直到叶片粉末全部变成白色为止);
- 4、4000转/分,离心10分钟,取上清液(用提取液)稀释到合适的浓度(OD值<1),提取液调零,分别在663nm和645nm处分光光度计读取吸光度值A。

方法二:(机械匀浆)

1. 取新鲜植物叶片(去掉中脉)或其他组织,蒸馏水清洗干净后用吸水纸吸干,称取约0.1g剪碎,置于研钵。
2. 加入1mL蒸馏水,少量试剂一(50mg),在避光条件下充分研磨后置于10mL离心管内。
3. 用提取液冲洗研钵,将洗液转移至离心管,再用提取液定容至5mL,在避光条件下静置约3h以上(每隔一段时间涡旋混匀一次,直到叶片粉末全部变成白色为止)。
4. 4000转/分,离心10分钟,取上清液(用提取液)稀释到合适的浓度(OD值<1),提取液调零,分别在663nm和645nm处分光光度计读取吸光度值A。

五、计算公式:

叶绿素a含量(mg/g鲜重) = $(12.7 \times A_{663} - 2.69 \times A_{645}) \times V_{\text{提取液}} \times N \div m \div 1000$

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

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

注: $V_{\text{提取液}}$: 提取液总体积(5mL); N: 上清液稀释倍数; m: 样本质量(g)。

六、注意事项:

1. 叶绿素对光敏感,所有操作尽量在避光条件下进行;
2. 为了提取充分,一定要将组织残渣浸提至完全变白;
3. 研磨完,用提取液冲洗研钵,将所有绿色物质冲洗转移至离心管中;
4. 如果吸光度超过1,可以对上清液进行适当稀释。