

植物叶绿素（chlorophyll）含量试剂盒说明书

(分光法 48 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，利用分光光度计在 645nm 和 663nm 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 含量及叶绿素总含量。

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
无水乙醇(自备)	200mL×1 瓶	4℃ 保存
丙酮（自备）	400mL×1 瓶	4℃ 保存

抽提 Buffer 配制：（体积比）乙醇：丙酮=1:1

三、所需的仪器和用品：

可见分光光度计、天平、1 mL 玻璃比色皿、10mL 玻璃试管、锡箔纸、无水乙醇、丙酮。

四、植物叶绿素含量的测定：

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 蒸馏水，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 定容至 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。

2、上机检测

分别取 1mL 浸提液和 1mL 抽提 Buffer 于 1mL 玻璃比色皿，记为测定管和空白管，分别于 663nm 和 645nm 处吸光值 A， $\Delta A_{663}=(A_{\text{测定}}-A_{\text{空白}})_{663}$ ， $\Delta A_{645}=(A_{\text{测定}}-A_{\text{空白}})_{645}$ 。

【注】：若吸光值 A 超过 1，需要适当稀释，计算公式乘以稀释倍数。

五、结果计算：

$$\begin{aligned} \text{叶绿素 a 含量 (mg/g 鲜重)} &= (12.72 \times \Delta A_{663} - 2.59 \times \Delta A_{645}) \times \frac{V \times D}{1000 \times W} \\ &= 0.01 \times (12.72 \times \Delta A_{663} - 2.59 \times \Delta A_{645}) \times D \div W \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{叶绿素 b 含量 (mg/g 鲜重)} &= (22.88 \times \Delta A_{645} - 4.67 \times \Delta A_{663}) \times \frac{V \times D}{1000 \times W} \\ &= 0.01 \times (22.88 \times \Delta A_{645} - 4.67 \times \Delta A_{663}) \times D \div W \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{叶绿素总含量 (mg/g 鲜重)} &= (20.29 \times \Delta A_{645} + 8.05 \times \Delta A_{663}) \times \frac{V \times D}{1000 \times W} \\ &= 0.01 \times (20.29 \times \Delta A_{645} + 8.05 \times \Delta A_{663}) \times D \div W \end{aligned}$$

V：提取液体积，10mL；D：稀释倍数；W：样本质量，g