

## 植物叶绿素（chlorophyll）含量试剂盒说明书

微量法100T/96S

注意：正式测定之前选择2-3个预期差异大的样本做预测定。

**测定意义**

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，是反应植物生长状况的重要指标。

**测定原理**

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以及总叶绿素含量。

**自备实验用品及仪器**

天平、研钵、可见分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96孔板、10mL玻璃试管、锡箔纸、丙酮。

**试剂组成和配制**

试剂一：粉剂×1瓶，4℃保存。

**测定操作**

1. 称取约新鲜植物叶片或其它绿色组织，去掉中脉，称取约0.1g，剪碎，用蒸馏水洗干净。
2. 提取液的准备：取240mL蒸馏水和960mL丙酮，充分混匀待用。
3. 加入1mL蒸馏水，少量试剂一（约50mg），在黑暗或弱光条件下充分研磨，转入10mL玻璃试管。
4. 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。
5. 取浸提液200μL于微量石英比色皿/96孔板，提取液调零，测定663nm和645nm处吸光值，分别记为A663和A645。

**计算公式**

$$\begin{aligned} \text{叶绿素a含量 (mg/g 鲜重)} &= (12.7 \times A_{663} - 2.69 \times A_{645}) \times V_{\text{提}} \times D \div m \div 1000 \\ &= 0.01 \times (12.7 \times A_{663} - 2.69 \times A_{645}) \times D \div m \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{叶绿素b含量 (mg/g 鲜重)} &= (22.9 \times A_{645} - 4.68 \times A_{663}) \times V_{\text{提}} \times D \div m \div 1000 \\ &= 0.01 \times (22.9 \times A_{645} - 4.68 \times A_{663}) \times D \div m \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{叶绿素总含量 (mg/g 鲜重)} &= (20.21 \times A_{645} + 8.02 \times A_{663}) \times V_{\text{提}} \times D \div m \div 1000 \\ &= 0.01 \times (20.21 \times A_{645} + 8.02 \times A_{663}) \times D \div m \end{aligned}$$

V<sub>提</sub>：提取液体积，10mL；D：稀释倍数；m：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免或者在弱光下进行。
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玻璃试管。
4. 测定时吸光值超过1，可进行适当稀释。