



## 植物叶绿素 (Chlorophyll) 含量检测试剂盒说明书

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×A<sub>663</sub> - 2.69 × A<sub>645</sub>) ×V 提

×D÷m÷1000

计算叶绿素 b 含量 (mg/g 鲜重) = (22.9× A<sub>645</sub> - 4.68 × A<sub>663</sub>) ×V 提

×D÷m÷1000



叶绿素总含量 (mg/g 鲜重) = (20.21 × A<sub>645</sub> + 8.02 × A<sub>663</sub>) × V<sub>提</sub> × D ÷ m ÷ 1000

V<sub>提</sub>: 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。