

植物类胡萝卜素含量检测试剂盒（微量法）

产品货号: BA1973

产品规格: 100T/96S

产品简介:

类胡萝卜素(carotenoid)是一类重要的天然色素的总称,普遍存在于动物、高等植物、真菌、藻类的黄色、橙红色或红色的色素之中。类胡萝卜素是体内维生素A的前体,同时还具有抗氧化、免疫调节、抗癌、减轻心血管疾病及着色剂等作用。

植物的类胡萝卜素存在于各种黄色质体或有色质体内;如黄叶,黄色花卉,黄色和红色的果实和黄色块根等组织,样本通过溶剂萃取,分离提取类胡萝卜素,在440±10nm处有特殊吸收峰。

大部分高等植物和藻类微生物的叶绿体内也含有类胡萝卜素,类胡萝卜素主要吸收蓝紫光,而叶绿素a和叶绿素b既吸收红光又可吸收蓝紫光。所以针对含叶绿体的组织,为排除叶绿素a和叶绿素b对类胡萝卜素的干扰,根据经验公式先计算出叶绿素a和叶绿素b的含量,再进一步得出类胡萝卜素的含量;针对不含叶绿素的组织可以直接根据类胡萝卜素的经验消光系数进行计算。

注意: 实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

产品组成:

产品名称	规格	保存条件
提取液	液体×1瓶(自备)	2-8℃
试剂一	粉剂×1瓶	2-8℃

溶液的配制:

提取液: 自备80%丙酮,将丙酮:蒸馏水(V:V)=4:1混合待用,提供一个125mL空瓶。

需自备的仪器和用品:

可见分光光度计/酶标仪、台式离心机、微量玻璃比色皿/96孔板(非聚苯乙烯材质)、天平、可调式移液枪、研钵/匀浆器、10mL离心管/试管、蒸馏水和丙酮。

操作步骤(仅供参考):

一、样本处理(可适当调整待测样本量,具体比例可以参考文献)

- 新鲜植物叶片(去掉中脉)或其他组织用蒸馏水洗干净,然后吸干表面水分,称取约0.1g,剪碎放入研钵或匀浆器中。
- 加入1mL蒸馏水,少量试剂一(约10mg),在黑暗或弱光条件下充分研磨,转入10mL离心管或试管中。
- 用提取液冲洗研钵或匀浆器,将所有冲洗液转入10mL离心管或试管中,用提取液定容至10mL,置于黑暗条件或者包上锡箔纸浸提3h(期间可以颠倒混合2次),观察底部组织残渣接近于白色则提取完全,若组织残渣未完全变白,继续浸提至组织残渣颜色接近于白色。

二、测定步骤

A、黄色或其他非绿色组织(不含叶绿体)类胡萝卜素含量测定步骤:

- 分光光度计/酶标仪预热30min以上,调节波长至440nm,分光光度计用提取液调零。
- 样本检测(微量玻璃比色皿检测不用测空白管,用96孔板检测空白管只需检测1-2次)



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话:400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

试剂名称 (μL)	空白管	测定管
样本	-	200
提取液	200	-

用分光光度计检测：于微量玻璃比色皿快速测定440nm处测定管吸光值，记为A₄₄₀。用酶标仪检测：于96孔板，快速测定440nm处吸光值，分别记为A₄₄₀空白管、A₄₄₀测定管， $\Delta A_{440}=A_{440}$ 测定管-A₄₄₀空白管。

B、新鲜植物叶片或其他绿色组织（含叶绿体）类胡萝卜素含量测定步骤：

1. 分光光度计/酶标仪预热30min以上，调节多波长至470nm、646nm和663nm，分光光度计用提取液调零。
2. 样本检测（微量玻璃比色皿检测不用测空白管，用96孔板检测空白管只需检测1-2次）

试剂名称 (μL)	空白管	测定管
样本	-	200
提取液	200	-

用分光光度计检测：于微量玻璃比色皿快速测定470nm、646nm和663nm处测定管吸光值，分别记为A₄₇₀、A₆₄₆和A₆₆₃。

用酶标仪检测：于96孔板，快速测定470nm、646nm和663nm 处吸光值，分别记为A₄₇₀空白管、A₄₇₀测定管、A₆₄₆空白管、A₆₄₆测定管、A₆₆₃空白管、A₆₆₃测定管。计算 $\Delta A_{470}=A_{470}$ 测定管-A₄₇₀空白管、 $\Delta A_{646}=A_{646}$ 测定管-A₆₄₆空白管、 $\Delta A_{663}=A_{663}$ 测定管-A₆₆₃空白管。

注意：若上层浸提液有残渣，可吸取1mL上层浸提液置于1.5mL棕色EP管，常温下4000r/min离心5min，再取上清液检测；若使用聚苯乙烯材质的96孔板，请在加样后5min内尽快测定完成。

三、类胡萝卜素含量的计算

A、黄色或其他非绿色组织（不含叶绿体）类胡萝卜素含量的计算公式：

1. 按微量玻璃比色皿计算

$$\text{类胡萝卜素含量 (mg/g 质量)} = A_{440} \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{样总}} \times 1000 \div W \times F = 0.04 \times A_{440} \times F \div W$$

V_{样总}：提取液总体积，0.01L；1000：单位换算系数，1g=1000mg； ϵ ：类胡萝卜素经验消光系数，250L/g/cm；

d：比色皿光径，1cm；F：稀释倍数；W：样本质量，g。

2. 按96孔板计算

$$\text{类胡萝卜素含量 (mg/g 质量)} = \Delta A_{440} \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{样总}} \times 1000 \div W \times F = 0.067 \times \Delta A_{440} \times F \div W$$

V_{样总}：提取液总体积，0.01L；1000：单位换算系数，1g=1000mg； ϵ ：类胡萝卜素经验消光系数，250L/g/cm；

d：96孔板光径，0.6cm；F：稀释倍数；W：样本质量，g。

B、新鲜植物叶片或其他绿色组织（含叶绿体）类胡萝卜素含量的计算公式：

1. 按微量玻璃比色皿计算

$$Ca \text{ (mg/L)} = 12.21 \times A_{663} - 2.81 \times A_{646}$$

$$Cb \text{ (mg/L)} = 20.13 \times A_{646} - 5.03 \times A_{663}$$

$$\text{类胡萝卜素浓度: } Cc \text{ (mg/L)} = (1000 \times A_{470} - 3.27 \times Ca - 104 \times Cb) \div 229 = 4.367 \times A_{470} - 0.014 \times Ca - 0.454 \times Cb$$

$$\text{类胡萝卜素含量 (mg/g 质量)} = Cc \times V_{\text{提取}} \times F \div W = 0.01 \times Cc \times F \div W$$

V_{提取}：提取液体积，0.01L；F：稀释倍数；W：样本质量，g。

2. 按96孔板计算：

$$Ca \text{ (mg/L)} = (12.21 \times \Delta A_{663} - 2.81 \times \Delta A_{646}) \div 0.6 = 20.35 \times \Delta A_{663} - 4.83 \times \Delta A_{646}$$

$$Cb \text{ (mg/L)} = (20.13 \times \Delta A_{646} - 5.03 \times \Delta A_{663}) \div 0.6 = 33.55 \times \Delta A_{646} - 8.38 \times \Delta A_{663}$$

$$\text{类胡萝卜素浓度: } Cc \text{ (mg/L)} = (1000 \times \Delta A_{470} \div 0.6 - 3.27 \times Ca - 104 \times Cb) \div 229 = 7.278 \times \Delta A_{470} - 0.014 \times Ca - 0.454$$

×Cb

$$\text{类胡萝卜素含量 (mg/g 质量)} = Cc \times V_{\text{提取}} \times F \div W = 0.01 \times Cc \times F \div W$$

V_{提取}：提取液体积，0.01L；F：稀释倍数；W：样本质量，g；0.6：光径比例，0.6cm（96孔板光径）：1cm



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
 Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

(比色皿光径)。

注意事项:

1. 若不确定组织中是否有叶绿素影响,可取样本提取液采用分光光度计在波长400-700nm下进行扫描,看波长640-670nm之间有无波峰,有波峰则为有叶绿素,反之则无。
2. 若使用聚苯乙烯材质的96孔板,请在加样后5min内尽快测定完成。
3. 当A超过1时,建议将样本用提取液稀释后再进行测定,计算公式中乘以稀释倍数F。
4. 为了避免色素见光分解,操作时应尽量避免光,研磨或匀浆时应尽量缩短时间。
5. 提取液易挥发,操作时做好防护措施。

实验实例:

1. 取0.1g黄花加入1mL蒸馏水、少量试剂一(约10mg),在黑暗或弱光条件下充分研磨,转入10mL离心管,提取液冲洗研钵或匀浆器,用提取液定容至10mL,置于黑暗条件或者包上锡箔纸浸提3h(期间可以颠倒混合2次),按照操作步骤A,用96孔板测定并计算 $\Delta A_{440} = A_{440} \text{测定管} - A_{440} \text{空白管} = 0.202 - 0.045 = 0.157$,计算含量得:

类胡萝卜素含量(mg/g 质量) = $0.067 \times A_{440} \div W = 0.1052 \text{mg/g 质量}$ 。

2. 取0.1g绿萝加入1mL蒸馏水、少量试剂一(约10mg),在黑暗或弱光条件下充分研磨,转入10mL离心管,提取液冲洗研钵或匀浆器,用提取液定容至10mL,置于黑暗条件或者包上锡箔纸浸提3h(期间可以颠倒混合2次),按照操作步骤B,用96孔板测定并计算 $\Delta A_{470} = A_{470} \text{测定管} - A_{470} \text{空白管} = 0.415 - 0.043 = 0.372$ 、 $\Delta A_{646} = A_{646} \text{测定管} - A_{646} \text{空白管} = 0.189 - 0.042 = 0.147$ 、 $\Delta A_{663} = A_{663} \text{测定管} - A_{663} \text{空白管} = 0.379 - 0.042 = 0.337$ 。计算含量得:

Ca (mg/L) = $20.35 \times 0.337 - 4.83 \times 0.147 = 6.145 \text{mg/L}$;

Cb (mg/L) = $33.55 \times 0.147 - 8.38 \times 0.337 = 2.108 \text{mg/L}$;

Cc (mg/L) = $7.278 \times \Delta A_{470} - 0.014 \times \text{Ca} - 0.454 \times \text{Cb} = 1.662 \text{mg/L}$; 计算含量得:

类胡萝卜素含量(mg/g 质量) = $0.01 \times \text{Cc} \times F \div W = 0.1662 \text{mg/g 质量}$ 。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话:400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com