

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 A_{663} 和 A_{645} 。

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 提：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光或者在弱光下进行。
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。