

类胡萝卜素(Carotenoid)检测试剂盒(微板法)

产品简介:

叶绿体是光合作用的细胞器,在光合作用研究中,常需要用提取的叶绿体展开下游研究工作,叶绿体中所含的色素主要有两大类,叶绿素(包括叶绿素 a 和叶绿素 b)和类胡萝卜素(包括胡萝卜素和叶黄素),它们与类囊体膜上的蛋白质结合,成为色素蛋白复合体,其中叶绿素又称叶绿体色素(Chlorophyll);类胡萝卜素是一种脂溶性且具有营养特性的化合物,给植物和动物提供天然色素,是重要的抗氧化剂,并有能力转换为必需维生素,类胡萝卜素可预防细胞、组织和基因损毁,增强身体免疫系统,抵御感染,减少癌症风险,保护心脏。

Leagene 类胡萝卜素(Carotenoid)检测试剂盒(微板法)检测原理是类胡萝卜素不溶于水,而溶于有机溶剂,以有机溶剂粗提类胡萝卜素,根据朗伯-比尔定律,某有色溶液的吸光度(A)与其中溶质浓度(C)和液层厚度(L)成正比,即 $A=\alpha CL$,其中 α 为比例常数,当溶液浓度以百分比浓度为单位,层液厚度为 1cm 时, α 为该物质的吸光系数。在本试剂盒情况下叶绿素 a、叶绿素 b、类胡萝卜素分别在 665nm、649nm、470nm 处有最大吸收波,根据经验公式可计算出叶绿素 a、叶绿素 b、总叶绿素、类胡萝卜素含量,主要用于植物组织中叶绿素、类胡萝卜素的提取以及以酶标仪定量检测叶绿素 a、叶绿素 b、总叶绿素、类胡萝卜素含量。该试剂盒仅用于科研领域,不适用于临床诊断或其他用途。

产品组成:

名称	编号	TP1057 100T	Storage
试剂(A): Carotenoid Assay Buffer		2×530ml	RT
试剂(B): 提取粉剂		6g	RT
使用说明书		1 份	

自备材料:

- 1、研钵或匀浆器、离心管、滤纸或纱布、离心机、96 孔板、酶标仪

操作步骤(仅供参考):

1、类胡萝卜素提取:

①取菠菜或其他植物新鲜叶片,洗净,擦干,去中脉,称取剪碎的新鲜样品 0.1g,置于研钵或匀浆器,加入少量提取粉剂(约 50mg)和 1ml Carotenoid Assay Buffer,研磨或匀浆成液态。

②将研磨液或匀浆液转移至 10ml 离心管,用少量 Carotenoid Assay Buffer 冲洗研钵

或匀浆器数次，最后连残渣一同倒入 10ml 离心管，补加 Carotenoid Assay Buffer 至 10ml，混匀，避光放置 5min ~ 2h。注：也可将组织剪碎，加入 Carotenoid Assay Buffer，避光放置 12~36h，期间晃动数次，使组织与提取试剂充分接触，当组织接近白色，即表示色素提取完成，如果仍有较多组织颜色，应继续浸提至组织残渣颜色接近于白色。

2、滤纸或三层纱布过滤，留取滤液，也可采用 4000r/min 离心 5min，取上清液待测。

3、Carotenoid 测定：

①新鲜植物叶片或其他绿色植物组织(含叶绿体)类胡萝卜素含量测定：

酶标仪开机预热 30min 以上，调节多波长至 665nm、649nm 和 470nm；取类胡萝卜素提取液 200 μ l 加入 96 孔板中，以 Carotenoid Assay Buffer 调零，分别用酶标仪测定提取液在 665nm、649nm、470nm 处的吸光度(A_{665} 、 A_{649} 、 A_{470})。

②黄色或其他非绿色植物组织(不含叶绿体)类胡萝卜素含量测定：

酶标仪开机预热 30min 以上，调节波长至 440nm；取类胡萝卜素提取液 200 μ l 加入 96 孔板中，以 Carotenoid Assay Buffer 调零，用酶标仪测定提取液在 440nm 处吸光度(A_{440})。

计算：

1、新鲜植物叶片或其他绿色植物组织(含叶绿体)类胡萝卜素含量计算：

$$\text{叶绿素 a 含量(mg/g)} = C_a \times V \times N / (W \times 1000)$$

$$\text{叶绿素 b 含量(mg/g)} = C_b \times V \times N / (W \times 1000)$$

$$\text{总叶绿素含量(mg/g)} = C_T \times V \times N / (W \times 1000)$$

$$\text{类胡萝卜素含量(mg/g)} = C_C \times V \times N / (W \times 1000)$$

$$\text{式中：} C_a = (13.95 \times A_{665} - 6.88 \times A_{649}) / 0.6 = 23.25 \times A_{665} - 11.467 \times A_{649} \text{ (mg/L)}$$

$$C_b = (24.96 \times A_{649} - 7.32 \times A_{665}) / 0.6 = 41.6 \times A_{649} - 12.2 \times A_{665} \text{ (mg/L)}$$

$$C_T = (6.63 \times A_{665} + 18.08 \times A_{649}) / 0.6 = 11.05 \times A_{665} + 30.133 \times A_{649} \text{ (mg/L)}$$

$$C_C = (1000 \times A_{470} / 0.6 - 2.05 \times C_a - 114.8 \times C_b) / 245 \text{ (mg/L)}$$

$$= (1000 \times A_{470} - 2851.304 \times A_{649} + 811.7385 \times A_{665}) / 147 \text{ (mg/L)}$$

$$= 6.8 \times A_{470} - 19.397 \times A_{649} + 5.522 \times A_{665} \text{ (mg/L)}$$

$$V = \text{类胡萝卜素提取液体积(ml)} = 10 \text{ (ml)}$$

$$N = \text{稀释倍数}$$

$$W = \text{样品鲜重或干重(g)}$$

$$1000 = \text{ml 与 L 的单位换算}$$

$$0.6 = 200\mu\text{l 提取液在酶标板中的光径(cm)}$$

2、黄色或其他非绿色植物组织(不含叶绿体)类胡萝卜素含量计算：

$$\text{类胡萝卜素含量(mg/g)} = A_{440} / (250 \times 0.6) \times V \times N \times 1000 / W = 0.067 \times A_{440} \times N / W$$

式中: V =类胡萝卜素提取液体积=0.01(L)

N =稀释倍数

W =样品鲜重或干重(g)

250=类胡萝卜素经验消光系数(L/g/cm)

1000=g 与 mg 的单位换算

0.6=200 μ l 提取液在酶标板中的光径(cm)

注意事项:

- 1、 为避免叶绿素和类胡萝卜素见光分解, 操作时应尽量避光, 研磨或匀浆时应尽量缩短时间。
- 2、 若不确定组织中是否有叶绿素影响, 可取提取液用分光光度计在波长 600-700nm 下进行波长扫描, 若有波峰, 则证明样品中有叶绿素, 反之则无。
- 3、 当样品吸光值大于 1 时, 可适当稀释后再进行测定, 计算时乘以稀释倍数。
- 4、 Carotenoid Assay Buffer 易挥发, 不用时需拧紧瓶盖。
- 5、 色素提取液不能出现浑浊现象, 否则应重新过滤。
- 6、 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。
- 7、 试剂开封后请尽快使用, 以防影响后续实验效果。

有效期: 12 个月有效。

相关产品:

产品编号	产品名称
DM0007	瑞氏-姬姆萨复合染色液
DP0013	GUS 染色液(即用型)
DZ0040	改良苯酚品红染色液
TC2033	维生素 C 检测试剂盒(磷钼酸比色法)
TC2161	脯氨酸(PRO)检测试剂盒(茚三酮微板法)
TE0720	总超氧化物歧化酶(SOD)检测试剂盒(NBT 核黄素微板法)

附录: 我公司用新鲜的绿萝叶片做样品试验: 取 0.3g 去除中脉, 加入 2ml 试剂 A 和 50mg 试剂 B, 用玻璃匀浆器充分匀浆, 静置 30s~1min, 上层匀浆液倒入干净的 50ml 离心管中, 再次加入 2ml 试剂 A, 充分匀浆, 反复三次, 至匀浆器底部组织残渣接近白色, 即提取完成。冲洗匀浆器, 合并入离心管中, 取滤纸放入玻璃漏斗, 用试剂 A 湿润滤纸, 倒入匀浆液, 用干净的 50ml 离心管接收滤液, 并用试剂 A 冲洗滤纸上的色素, 尽可能避免色素残留, 减少实验误差, 过滤终止后补加试剂 A 至总体积 50ml; 另取 0.3g 作为对照, 不研磨, 直接浸提, 2h 后用试剂 A 调零, 用分光光度计检测吸光度值, 结果见下表:

ml	试剂 A	研磨提取液	浸提提取液	665nm	649nm	470nm	N
调零管	2			0	0	0	-
A/2	1	1		0.353	0.165	0.587	2
A		2		0.718	0.338	1.184	1
B/2	1		1	0.111	0.052	0.179	2
B			2	0.220	0.103	0.355	1

计算结果如下:

单位	mg/L				mg/g			
	Ca	Cb	Ct	Cc	叶绿素 a	叶绿素 b	总叶绿素	类胡萝卜素
A/2	3.789	1.534	5.324	1.645	1.263	0.511	1.775	0.548
A	7.691	3.181	10.871	3.278	1.282	0.530	1.812	0.546
B/2	1.191	0.485	1.676	0.493	0.397	0.162	0.559	0.164
B	2.360	0.960	3.321	0.979	0.393	0.160	0.553	0.163