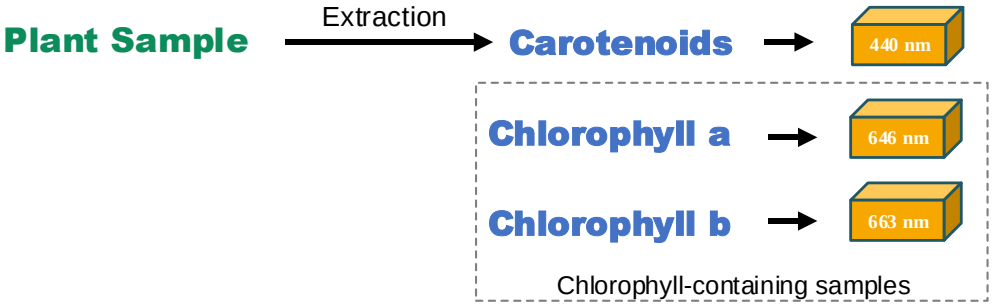
植物类胡萝卜素（Carotenoids）含量检测试剂盒

Plant Carotenoids Content Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.

植物类胡萝卜素（Carotenoids）含量检测试剂盒

Plant Carotenoids Content Assay Kit

一、产品描述

类胡萝卜素（Carotenoids）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。

类胡萝卜素在 440 ± 10 nm 处具有特殊吸收峰，样本经溶剂提取后在此波长下可检测其含量。含叶绿体的组织样本，需排除叶绿素 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；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。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	自备试剂	4℃避光保存	**80%丙酮** （按丙酮：蒸馏水（V:V）=4:1 的体积比配置）
试剂一	粉剂×1 瓶	4℃保存	-

需自备试剂：丙酮（C_3H_6O，MW = 58.08，CAS: 67-64-1）；

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿/96 孔板（建议使用非聚苯乙烯材质的 96 孔板）、研钵/匀浆器、可调式移液器、丙酮和蒸馏水。

1.植物样品的处理（可根据预实验结果适当调整样本量及比例）

①新鲜植物叶片或其它绿色组织使用蒸馏水清洗干净，吸干表面水分，去除中脉，称取约 0.1 g，剪碎放入研钵或匀浆器中；

②加入 1 mL 蒸馏水和少量试剂一（约 10 mg），在黑暗或弱光条件下充分研磨，转入 15 mL 试管/离心管中；

③使用提取液冲洗研钵，将所有冲洗液转入 15 mL 试管/离心管中，提取液定容至 10 mL，置于黑暗条件下或锡箔纸避光浸提 3 h（期间颠倒混合 2-3 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白色即为**浸提液**。

Not for further distribution without written consent. Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

2.测定步骤

（1）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

①分光光度计/酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 440 nm，**提取液**调零；

②取 200 μL 上层浸提液于微量玻璃比色皿/96 孔板中，测定 440 nm 处吸光值，记为 A_{440}。

（2）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 30 min 以上，调节多波长至 470 nm、646 nm 和 663 nm，**提取液**调零；

②取 200 μL 上层浸提液于微量玻璃比色皿/96 孔板中，测定 470 nm、646 nm 和 663 nm 处吸光值，分别记为 A_{470}、A_{646} 和 A_{663}。

注意：①酶标仪无法调零可设置空白组（200 μL 提取液），测定吸光值需减去空白组吸光值；②若上层浸提液有残渣，建议吸取 1.5 mL 上层浸提液置于 1.5 mL 棕色离心管，4000 rpm 常温离心 5 min，取上清液再进行检测；③若使用聚苯乙烯材质的 96 孔板，请在 5 min 内尽快测定完成。

3.类胡萝卜素（Carotenoids）含量计算

3.1 使用微量玻璃比色皿测定的计算公式

（1）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

$$\text{类胡萝卜素含量（mg/g）} = \frac{A_{440}\times V_{提}\times 1000\times D}{\varepsilon\times d\times W} = \frac{0.04\times A_{440}\times D}{W}$$

注释：V 提：样品提取液后总体积，0.01 L；ε：类胡萝卜素经验消光系数，250 L/g/cm；d：比色皿光径，1 cm；D：稀释倍数；W：样本质量，g；1000：单位换算系数，1 g =1000 mg。

（2）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

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

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

$$\text{类胡萝卜素浓度 } C_c\text{（mg/L）} = \frac{1000\times A_{470}-3.27\times C_a-104\times C_b}{229} = 4.367\times A_{470}-0.014\times C_a-0.454\times C_b$$

$$\text{类胡萝卜素含量（mg/g）} = \frac{C_c\times V_{提}\times D}{W} = \frac{0.01\times C_c\times D}{W}$$

注释：V 提：样品提取液后总体积，0.01 L；D：稀释倍数；W：样本质量，g。

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.
Not for further distribution without written consent. Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

3.2 使用 96 孔板测定的计算公式

（1）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

$$\text{类胡萝卜素含量（mg/g）} = \frac{A_{440}\times V_{提}\times 1000\times D}{\varepsilon\times d\times W} = \frac{0.08\times A_{440}\times D}{W}$$

注释：V 提：样品提取液后总体积，0.01 L；ε：类胡萝卜素经验消光系数，250 L/g/cm；d：96 孔板光径，0.5 cm；D：稀释倍数；W：样本质量，g；1000：单位换算系数，1 g =1000 mg。

（2）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

$$C_a\text{（mg/L）} = \frac{12.21\times A_{663}-2.81\times A_{646}}{d} = 24.42\times A_{663}-5.62\times A_{646}$$

$$C_b\text{（mg/L）} = \frac{20.13\times A_{663}-5.03\times A_{646}}{d} = 40.26\times A_{646}-10.06\times A_{663}$$

$$\text{类胡萝卜素浓度 } C_c\text{（mg/L）} = \frac{1000\times A_{470}/d-3.27\times C_a-104\times C_b}{229} = 8.734\times A_{470}-0.014\times C_a-0.454\times C_b$$

$$\text{类胡萝卜素含量（mg/g）} = \frac{C_c\times V_{提取}\times D}{W} = \frac{0.01\times C_c\times D}{W}$$

注释：V 提：样品提取液后总体积，0.01 L；D：稀释倍数；W：样本质量，g；d：96 孔板光径，0.5 cm。

四、注意事项

①为避免色素见光分解，操作时应尽量避光，研磨或匀浆时应尽量缩短时间；

②若不确定组织中有无叶绿素影响，可取样本浸提液采用分光光度计在波长 400-700 nm 下进行扫描，640-670 nm 之间有吸收峰则表明存在叶绿体；

③若测定吸光值超过 1.0，建议将浸提液使用提取液适当稀释后再进行测定，计算时相应调整（按实际稀释倍数调整计算公式中 D）；若测定吸光值小于 0.05 时，可适当减少提取过程中提取液的用量后再进行测定，计算时相应调整（按实际提取后总体积调整计算公式中 V 提）；

④为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。