

类胡萝卜素(carotenoid)含量试剂盒说明书

微量法 100 管/96 样

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

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。

测定原理

样品通过混合有机溶剂萃取，类胡萝卜素与非类胡萝卜素成分分离，在 440nm 处有特征吸收峰。

自备实验用品及仪器

天平、烘箱，100 目筛、三角瓶或烧杯、漏斗，纱布、玻璃试管、可见分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96 孔板。

试剂组成和配制

试剂一：液体 100mL×20 瓶，4℃ 保存。

试剂二：液体 100mL×10 瓶。4℃ 保存。

提取液：临用前可按照试剂一（V）：试剂二（V）= 2:1 混匀，封口膜封紧，防止挥发，配置好的提取液 4℃ 保存。

样本处理

组织样品：60℃ 烘干粉碎，过 100 目筛，称约 0.2g 于玻璃试管中，加 6mL 提取液，浸提 20min，提取液过滤至烧杯或三角瓶中，反复提取至残渣无色，合并滤液定容至 50mL 待测。

测定操作表

	空白管	测定管
样本 (μL)		1000
提取液 (μL)	1000	
于微量石英比色皿/96 孔板，迅速测定 440nm 处吸光值 A，分别记为 A 空白管和 A 测定管， $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}$		

注意：空白管只需测定一次。

计算公式

a. 用微量石英比色皿测定的计算公式如下

$$\begin{aligned} \text{类胡萝卜素含量 } (\mu\text{g/g}) &= \Delta A \times V_{\text{样总}} \div (\epsilon \times d) \div W \times 1000 \\ &= 20 \times \Delta A \div W \end{aligned}$$

V 样总：提取液总体积，50mL； ϵ ：类胡萝卜素经验吸光系数，2500；d：比色皿光径，1cm；W：样本质量，g

b. 用 96 孔板测定的计算公式如下

$$\begin{aligned} \text{类胡萝卜素含量 } (\mu\text{g/g}) &= \Delta A \times V_{\text{样总}} \div (\epsilon \times d) \div W \times 1000 \\ &= 40 \times \Delta A \div W \end{aligned}$$

V 样总：提取液总体积，50mL； ϵ ：类胡萝卜素经验吸光系数，2500；d：96 孔板光径，0.5cm；W：样本质量，g

注意事项

1. 提取液易挥发，有毒性，操作时做好防护措施。
2. 测定必须能迅速，防止挥发造成误差。