

类胡萝卜素(carotenoid)含量试剂盒说明书

分光光度法 50 管/48 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 448nm 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、1 mL 玻璃比色皿、正己烷

试剂组成和配制：

试剂一：液体 100mL×3 瓶，4℃ 保存。

试剂二：液体 100mL×1 瓶。4℃ 保存。

试剂三：液体 80mL×1 瓶。4℃ 保存。

试剂四：自备。（正己烷）

样本处理：

提取：称取 0.5g 样本，加入 1.5mL 试剂一，冰浴匀浆，超声破萃取 15min(可改用振荡金属浴)，15000g 25℃ 离心 5min，取上层液转入 10mL 离心管中，沉淀用 1.5mL 试剂一重复提取 2 次，并将上层液并入上述 10mL 离心管中作为提取出的非皂化类胡萝卜素样品。

皂化：向上述非皂化类胡萝卜素样品中加入 2mL 试剂二，混匀，25℃ 室温避光皂化过夜，皂化完成后，加入 3mL 试剂三，混匀后，5000g 25℃ 离心 5min，将上层类胡萝卜素提取相转入 5mL 离心管，用正己烷定容到 5mL，置冰上待测。

测定操作表：

	空白管	测定管
样本 (μL)		1000
正己烷 (μL)	1000	
于 1mL 玻璃比色皿，迅速测定 450nm 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：

类胡萝卜素含量 (μg/g 鲜重) = $\Delta A \times V_{\text{样总}} \div (\epsilon \times d) \div W$

$$= 31.25 \times \Delta A \div W$$

V 样总：提取液总体积，5mL； ϵ ：类胡萝卜素消光系数，0.16；d：比色皿光径，1cm；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。