

不同溶剂浸提枣树叶片叶绿素效果的研究

胡秉芬, 黄华梨, 季元祖, 赵晓芳, 戚建莉, 张露荷, 张广忠

(甘肃省林业科学研究院, 甘肃 兰州 730020)

摘要:为探讨枣树叶片叶绿素的最佳提取方法,以16种枣树品种为材料,用95%乙醇、乙醇丙酮混合液(1:1)和80%丙酮分别浸提不同枣树品种叶片叶绿素,用分光光度法测定叶绿素含量,对不同浸提液的叶绿素含量进行了分析。结果表明:80%丙酮浸提枣树叶片叶绿素的效果不佳;95%乙醇和乙醇丙酮混合液(1:1)浸提枣树叶片叶绿素的效果好,且水平相当。但丙酮对人体的健康危害较大,浸提枣树叶片叶绿素应首选95%乙醇。

关键词:枣树;叶绿素;浸提;有机溶剂

中图分类号:S665.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1002-2767(2017)11-0048-07 DOI:10.11942/j.issn1002-2767.2017.11.0048

叶绿素是植物吸收光能进行光合作用的重要物质基础,植物生理研究中经常涉及叶绿素含量的测定。叶绿素是脂溶性色素,不溶于水,可溶于丙酮和乙醇等有机溶剂。大量文献表明,不同研究者已经用不同溶剂浸提了许多种植物叶片的叶绿素并进行了浸提效果的研究。张宪政^[1]用大豆、山楂、白菜、玉米、甘薯叶为试材,用3种提取液比较测定叶绿素含量的差异,认为丙酮乙醇混合液直接浸提叶绿素效果好。洪法水等^[2]以菠菜为试材,研究表明丙酮与乙醇混合液提取叶绿素存在协同效应,且二者在等摩尔混合时提取效果最好。任红等^[3]研究了不同提取液对菜心叶片叶绿素提取效果,提取效果最好的是丙酮与乙醇,体积比为2:1。王红梅等^[4]以三角槭叶为试验材料,比较了不同浸提液对色素浸提效果的影响,结果发现,适合叶绿素的浸提液为丙酮:乙醇=1:1。徐彩平^[5]采用热乙醇法提取了浮游植物叶绿素a。徐邦发等^[6]通过比较几种不同混合提取液的提取效果,认为棉花叶片叶绿素含量的最佳提取方法为丙酮浸提法。本试验在前人研究的基础上,用浸提法对枣树叶片叶绿素的提取效果进行了比较研究,为田间枣树大批量叶片叶绿素含量测定提供理论支持。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料为16个四年生枣树品种(新郑灰

枣、胎里红、金昌一号、新郑早红枣、壶瓶枣、新星枣、阜新大枣、磨盘大枣、黄骅冬枣、赞皇大枣、曙光、新星无核、悠悠、甘酥佛枣、七月鲜、五佛圆枣),2016年6月23日采样自甘肃省林业科学研究院靖远县双龙乡枣树示范园。仪器用带有刻度并具塞的三角瓶,直径0.346 cm的打孔器,紫外可见分光光度计(UV-1600PC型,上海美谱达仪器有限公司)及1 cm比色皿。试剂用80%丙酮、95%乙醇、乙醇丙酮混合液(按体积比配制的提取液1:1)。

1.2 方法

1.2.1 试验设计 每个品种在枣树树冠外围中部东、西、南、北4个方位选取二次枝中部枣股发达的枣吊的中部各采2片叶,擦净叶片表面污物,用打孔器沿每个枣树叶片主脉两侧对应部位打取3个小圆片(圆叶面积 $S=0.3759\text{ cm}^2$)叶样,分别无损地直接放入3个具塞小玻璃瓶,再分别加入乙醇(95%)丙酮(80%)混合液(1:1)、乙醇(95%)、丙酮(80%),都定容6 mL,封口后室温暗处浸泡提取。待浸提材料完全变白后,取上清液用紫外可见分光光度计在663 nm、645 nm波长和665 nm、649 nm波长下比色(丙酮溶液中的叶绿素a、b在长波光方面的最大吸收峰位于663 nm和645 nm,乙醇溶液中的叶绿素a、b在长波光方面的最大吸收峰位于665 nm和649 nm^[1]),记录数据。每个品种单株样品重复测定3次。

3种叶绿素浸提液在663 nm、645 nm波长下测得的试验结果标记为叶绿素a、叶绿素b、叶绿素a+b,在665 nm、649 nm波长下测得的试验结果标记为叶绿素a、叶绿素b、叶绿素a+b。3种

收稿日期:2017-09-20

基金项目:林业公益性行业科研专项资助项目(201304702)

第一作者简介:胡秉芬(1969-),女,甘肃省景泰县人,博士,副研究员,从事经济林育种研究。E-mail:bf9134hu@163.com。

通讯作者:黄华梨(1963-),男,四川省广元市人,学士,正高级工程师,从事经济林和自然保护管理与研究。E-mail:gshhl@hotmail.com。

浸提液乙醇(95%)丙酮(80%)混合液(1:1)、乙醇(95%)、丙酮(80%)按顺序排为 1、2、3。

1.2.2 数据分析 分光光度法测定叶绿素含量主要依据 Arnon^[7] 公式,其计算方法是:分别以提取液作空白,用紫外可见分光光度计在 663 nm 和 645 nm 波长下测定吸光度(A),并计算叶绿素含量(mg·g⁻¹或 mg·dm⁻²)。

叶绿素 a 含量 = (12.7A₆₆₃ - 2.69A₆₄₅) × $\frac{V}{1000 \times W}$;

叶绿素 b 含量 = (22.9A₆₄₅ - 4.68A₆₆₃) × $\frac{V}{1000 \times W}$;

叶绿素总量 = 叶绿素 a 含量 + 叶绿素 b 含量 = (20.21A₆₄₅ + 8.02A₆₆₃) × $\frac{V}{1000 \times W}$;

在 665 nm 和 649 nm 波长下测定的吸光度(A),用下面 Arnon 的修正公式^[8]。计算叶绿素含量(mg·g⁻¹或 mg·dm⁻²)。

叶绿素 a 含量 = (13.7A₆₆₅ - 5.76A₆₄₉) × $\frac{V}{1000 \times W}$;

叶绿素 b 含量 = (25.8A₆₄₉ - 7.6A₆₆₅) × $\frac{V}{1000 \times W}$;

叶绿素总量 = 叶绿素 a 含量 + 叶绿素 b 含量 = (6.10A₆₆₅ + 20.04A₆₄₉) × $\frac{V}{1000 \times W}$;

式中 A₆₆₃、A₆₄₅、A₆₆₅、A₆₄₉ 分别为相应波长下的吸光度(A),V 为提取液的体积(mL),W 为叶片鲜重(g)或叶面积(dm²)。

用 Microsoft Office Excel 2003 分析数据。

2 结果与分析

2.1 不同浸提液提取的叶绿素 a 含量

由表 1 可知,乙醇丙酮(1:1)、乙醇(95%)和丙酮(80%)3 种不同浸提液提取的 16 种枣树品种叶片叶绿素溶液在 665 和 649 nm 波长下比色测得的叶绿素 a 含量的平均值分别是 3.599 594、3.675 607、1.193 953 mg·dm⁻²,在 663、645 nm 波长下比色测得的叶绿素 a 含量的平均值分别是 3.950 854、3.834 523、1.374 339 mg·dm⁻²,两组数据中都是乙醇丙酮混合液和乙醇溶液的叶绿素 a 提取量较高且提取水平相当,相差分别为

表 1 不同浸提液提取的枣树叶片叶绿素含量
Table 1 The chlorophyll content of jujube leaves extracted by different extracts

浸提液 Extracts	枣树品种 Jujube varieties	叶绿素含量/(mg·dm ⁻²) Chlorophyll content				
		A ₆₆₅ / A ₆₄₉	a	b	a/b	a+b
乙醇丙酮混合液(1:1) Mixture of ethanol and acetone	新郑灰枣	2.213823	4.034981	1.473938	2.737551	5.508919
	胎里红	2.174564	3.418157	1.319003	2.591470	4.737161
	金昌一号	2.271468	3.247190	1.093128	2.970550	4.340317
	新郑早红枣	2.260736	2.915364	0.996577	2.925377	3.911941
	壶瓶枣	2.172336	3.754346	1.453223	2.583461	5.207569
	新星枣	2.173626	3.876386	1.497774	2.588097	5.374160
	阜新大枣	2.161616	3.350622	1.316378	2.545333	4.667000
	磨盘大枣	2.137079	3.712157	1.508699	2.460502	5.220857
	黄骅冬枣	2.167089	3.352665	1.307227	2.564715	4.659892
	赞皇大枣	2.237681	3.046626	1.076102	2.831169	4.122728
	曙光	2.106090	4.169393	1.768201	2.357986	5.937593
	新星无核	2.234637	3.156130	1.119589	2.819009	4.275719
	悠悠	2.216374	2.984723	1.086388	2.747381	4.071111
	甘酥佛枣	2.160338	4.007647	1.577299	2.540829	5.584946
	七月鲜	2.209581	4.355818	1.600638	2.721300	5.956457
	五佛圆枣	2.160643	4.211304	1.656753	2.541903	5.868057
	平均值	2.191105	3.599594	1.365682	2.657915	4.965277

续表 1 Continuing Table 1

浸提液 Extracts	枣树品种 Jujube varieties	叶绿素含量/(mg·dm ⁻²) Chlorophyll content				
		$\Lambda_{665}/\Lambda_{649}$	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>a/b</i>	<i>a+b</i>
乙醇浸提液 Ethanol extract	新郑灰枣	2.376147	4.143598	1.197198	3.461081	5.340796
	胎里红	2.422961	3.221013	0.867110	3.714653	4.088123
	金昌一号	2.409884	3.325658	0.913293	3.641394	4.238950
	新郑早红枣	2.440789	2.984609	0.781768	3.817768	3.766378
	壶瓶枣	2.408060	3.834523	1.055955	3.631334	4.890478
	新星枣	2.356828	4.272044	1.270267	3.363107	5.542311
	阜新大枣	2.315522	3.619161	1.143354	3.165391	4.762515
	磨盘大枣	2.290323	3.661903	1.199823	3.052037	4.861726
	黄骅冬枣	2.351706	3.575646	1.071278	3.337739	4.646924
	赞皇大枣	2.409231	3.140942	0.863421	3.637787	4.004363
	曙光	2.356132	3.988316	1.187124	3.359645	5.175440
	新星无核	2.333333	3.262761	1.004310	3.248760	4.267071
	悠悠	2.351682	3.068823	0.919464	3.337621	3.988288
	甘酥佛枣	2.388614	3.863957	1.095752	3.526305	4.959709
	七月鲜	2.367140	4.663730	1.365682	3.414945	6.029412
	五佛圆枣	2.333333	4.183027	1.287576	3.248760	5.470604
	平均值	2.369480	3.675607	1.076460	3.434895	4.752060
丙酮浸提液 Acetone extract	新郑灰枣	2.052632	1.054898	0.481192	2.192260	1.536089
	胎里红	2.113043	0.945890	0.397340	2.380557	1.343230
	金昌一号	2.036810	1.280312	0.596684	2.145714	1.876996
	新郑早红枣	2.101010	0.808499	0.345269	2.341648	1.153768
	壶瓶枣	2.061728	1.292074	0.582141	2.219522	1.874215
	新星枣	1.931034	1.277276	0.686566	1.860384	1.963841
	阜新大枣	1.947059	1.261151	0.663439	1.900930	1.924590
	磨盘大枣	2.060606	1.052081	0.474736	2.216139	1.526817
	黄骅冬枣	1.848000	0.867146	0.521202	1.663740	1.388348
	赞皇大枣	2.045455	1.389816	0.640170	2.171011	2.029987
	曙光	1.987903	1.889020	0.940534	2.008455	2.829554
	新星无核	2.038168	1.029827	0.479064	2.149667	1.508891
	悠悠	1.991453	0.893209	0.442600	2.018096	1.335809
	甘酥佛枣	2.049724	1.433055	0.656274	2.183623	2.089329
	七月鲜	1.955224	1.499101	0.779995	1.921937	2.279096
	五佛圆枣	1.960265	1.129889	0.583914	1.935026	1.713803
	平均值	2.011257	1.193953	0.579445	2.081794	1.773398

浸提液 Extracts	枣树品种 Jujube varieties	叶绿素含量/(mg·dm ⁻²) Chlorophyll content				
		$\Lambda_{663}/\Lambda_{645}$	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>a/b</i>	<i>a+b</i>
乙醇丙酮混合液(1:1) Mixture of ethanol and acetone	新郑灰枣	2.938889	4.422524	1.167885	3.78678	5.590409
	胎里红	2.853968	3.749206	1.066305	3.516074	4.815511
	金昌一号	3.035971	3.536749	0.857065	4.126583	4.393814
	新郑早红枣	3.015873	3.183159	0.785315	4.053351	3.968474
	壶瓶枣	2.855491	4.120550	1.170368	3.520730	5.290918
	新星枣	2.876056	4.260619	1.188692	3.584292	5.449311

续表 1 Continuing Table 1

浸提液 Extracts	枣树品种 Jujube varieties	叶绿素含量/(mg·dm ⁻²) Chlorophyll content				
		Λ ₆₆₃ /Λ ₆₄₅	a	b	a/b	a+b
乙醇丙酮混合液(1:1) Mixture of ethanol and acetone	阜新大枣	2.857605	3.682855	1.044129	3.527204	4.726984
	磨盘大枣	2.786932	4.083292	1.230724	3.317795	5.314016
	黄骅冬枣	2.845161	3.677396	1.053912	3.489284	4.731308
	赞皇大枣	2.988764	3.340027	0.844076	3.957023	4.184102
	曙光	2.726601	4.599365	1.460190	3.149841	6.059555
	新星无核	2.981949	3.456618	0.878822	3.933238	4.335440
	悠悠	2.962121	3.270813	0.846268	3.864987	4.117081
	甘酥佛枣	2.844086	4.411074	1.265358	3.486029	5.676432
	七月鲜	2.935733	4.773252	1.264003	3.776298	6.037255
	五佛圆枣	2.856410	4.646165	1.318606	3.523543	5.964771
	平均值	2.897601	3.950854	1.090107	3.663316	5.040961
乙醇浸提液 Ethanol extract	新郑灰枣	2.991304	4.319713	1.089205	3.965933	5.408917
	胎里红	3.061303	3.350256	0.793679	4.221172	4.143935
	金昌一号	3.036765	3.461389	0.838209	4.129507	4.299597
	新郑早红枣	3.096234	3.105468	0.712920	4.355983	3.818388
	壶瓶枣	3.041534	3.989866	0.962079	4.147131	4.951945
	新星枣	2.952909	4.457608	1.162728	3.833750	5.620335
	阜新大枣	2.910256	3.792612	1.026997	3.692916	4.819608
	磨盘大枣	2.845679	3.844228	1.101229	3.490852	4.945457
	黄骅冬枣	2.947195	3.733628	0.978792	3.814525	4.712420
	赞皇大枣	3.035019	3.268483	0.792729	4.123079	4.061211
	曙光	2.955490	4.165175	1.083983	3.842472	5.249158
丙酮浸提液 Acetone extract	新星无核	2.890071	3.402295	0.937696	3.628355	4.339991
	悠悠	2.938697	3.206104	0.846800	3.786143	4.052904
	甘酥佛枣	3.006250	4.028234	1.002338	4.018840	5.030572
	七月鲜	2.969309	4.856934	1.248708	3.889567	6.105642
	五佛圆枣	2.921788	4.370375	1.171560	3.730390	5.541935
	平均值	2.974988	3.834523	0.984353	3.916914	4.818876
	新郑灰枣	2.788462	1.207144	0.363359	3.322179	1.570503
	胎里红	2.943182	1.082763	0.284856	3.801091	1.367619
	金昌一号	2.787402	1.473502	0.443941	3.319141	1.917443
	新郑早红枣	2.894737	0.918528	0.252124	3.643163	1.170652
	壶瓶枣	2.848000	1.48442	0.424375	3.497894	1.908795
丙酮浸提液 Acetone extract	新星枣	2.561151	1.471061	0.538093	2.73384	2.009155
	阜新大枣	2.588235	1.455905	0.520365	2.797851	1.976270
	磨盘大枣	2.852941	1.213557	0.345454	3.512937	1.559010
	黄骅冬枣	2.368932	1.00088	0.431597	2.319014	1.432477
	赞皇大枣	2.817518	1.608112	0.472048	3.406674	2.080160
	曙光	2.673469	2.173472	0.722206	3.009489	2.895678
	新星无核	2.803922	1.191033	0.353754	3.366843	1.544787
	悠悠	2.695652	1.029394	0.335607	3.067261	1.365001
	甘酥佛枣	2.801418	1.644838	0.489598	3.359567	2.134436
	七月鲜	2.590062	1.724859	0.615532	2.802223	2.340392
	五佛圆枣	2.655462	1.309955	0.442040	2.963433	1.751994
	平均值	2.729409	1.374339	0.439684	3.182663	1.814023

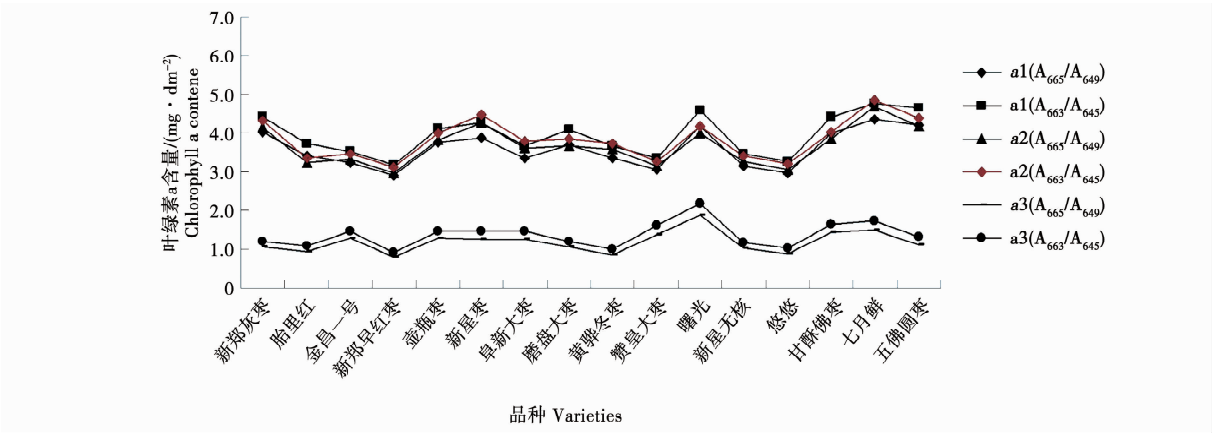


图 1 不同浸提液提取的枣树叶片叶绿素 a 含量

Fig. 1 The chlorophyll a content of jujube leaves in different extracts

0.076 013 和 0.116 331 $\text{mg} \cdot \text{dm}^{-2}$, 而丙酮溶液提取的叶绿素 a 含量都明显较少。同样在图 1 上可以更直观地看出, 3 种浸提液从每个枣树品种叶片中提取的叶绿素 a 含量, 都表现出乙醇丙酮混合液和乙醇溶液的叶绿素 a 提取量较高且水平相当, 而丙酮溶液的提取量都明显较少, 即 $a1(A_{665}/A_{649})$ 、 $a1(A_{663}/A_{645})$ 、 $a2(A_{665}/A_{649})$ 、 $a2(A_{663}/A_{645})$ 四条曲线高度相当, 而 $a3(A_{665}/A_{649})$ 和 $a3(A_{663}/A_{645})$ 两条曲线的高度低很多。

结果表明, 单纯的丙酮溶液(80%)不能完全浸提枣树叶片中的叶绿素 a, 而乙醇丙酮混合液(1:1)和乙醇(95%)都可高效浸提枣树叶片中的叶绿素 a。

2.2 不同浸提液提取的叶绿素 b 含量

由表 1 看出, 乙醇丙酮(1:1)、乙醇(95%)和

丙酮(80%)3 种不同浸提液提取的 16 种枣树品种叶片叶绿素溶液在 665 和 649 nm 波长下比色测得的叶绿素 b 含量的平均值分别是 1.365 682、1.076 461 和 0.579 445 $\text{mg} \cdot \text{dm}^{-2}$, 在 663 和 645 nm 波长下比色测得的叶绿素 b 含量的平均值分别是 1.090 107、0.984 353 和 0.439 684 $\text{mg} \cdot \text{dm}^{-2}$, 两组数据中都是乙醇丙酮混合液和乙醇溶液的叶绿素 b 提取量较高且提取水平相当。乙醇丙酮混合液在 665 和 649 nm 波长下比色测得的叶绿素 b 含量较在 663 和 645 nm 波长下比色测得的叶绿素 b 含量稍高, 相差 0.275 575 $\text{mg} \cdot \text{dm}^{-2}$, 这在图 2 上更直观, $b1(A_{665}/A_{649})$ 曲线明显高于 $b1(A_{663}/A_{645})$ 曲线, 而两组波长下乙醇(95%)的叶绿素 b 提取量仅相差 0.092 107 $\text{mg} \cdot \text{dm}^{-2}$, 图 2 上 $b2(A_{665}/A_{649})$ 曲线和 $b2(A_{663}/A_{645})$ 曲线表现几近重合。

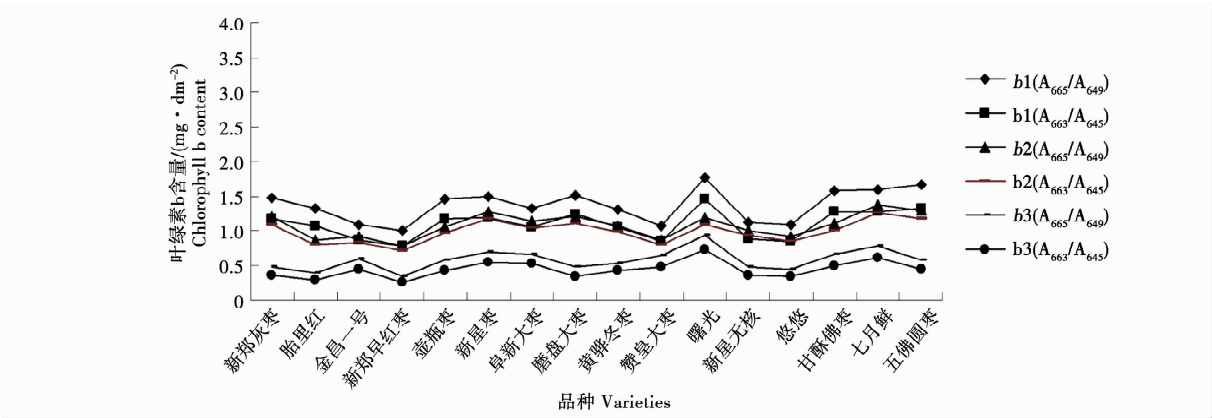


图 2 不同浸提液提取枣树叶片的叶绿素 b 含量

Fig. 2 The chlorophyll b content of jujube leaves in different extracts

与浸提叶绿素 a 的效果一样, 丙酮溶液提取的叶绿素 b 含量都明显较少。这说明单纯的丙酮

溶液不能作为枣树叶片叶绿素 b 的浸提液。同时, 由图 2 和表 1 也可看出, 3 种浸提液从每个枣

树品种叶片中提取的叶绿素 b 含量,都表现出乙醇丙酮混合液和乙醇溶液的叶绿素 b 提取量较高且水平相当,而丙酮溶液的提取量都明显较少。

整体上,枣树叶片中叶绿素 b 含量较叶绿素 a 含量低很多,表 1 中的数据显示 a/b 值在 3 左右。

结果表明单纯的丙酮溶液(80%)不能完全浸提枣树叶片中的叶绿素 b,而乙醇丙酮混合液(1:1)和乙醇(95%)都可高效浸提枣树叶片的叶绿素 b。

2.3 不同浸提液提取的叶绿素 a+b 含量

由表 1 看出,乙醇丙酮(1:1)、乙醇(95%)和丙酮(80%)3 种不同浸提液提取的 16 种枣树品种叶片叶绿素溶液在 665 和 649 nm 波长下比色测得的叶绿素 a+b 含量的平均值分别是 4.965 277、4.752 060 和 1.773 398 $\text{mg}\cdot\text{dm}^{-2}$,在 663 和 645 nm 波长下比色测得的叶绿素 a+b 含量的平均值分别是 5.040 961、4.818 876 和 1.814 023 $\text{mg}\cdot\text{dm}^{-2}$,两组数据中都是乙醇丙酮混合液和乙醇溶液的叶绿素 a+b 提取量较高且含量水平相当,相差分别为 0.213 217 和 0.222 085 $\text{mg}\cdot\text{dm}^{-2}$,而丙酮溶液提取的叶绿素

a+b 含量都明显较少。同时,由表 1 也可看出,3 种浸提液从每个枣树品种叶片中提取的叶绿素 a+b 含量,都表现出乙醇丙酮混合液和乙醇溶液的叶绿素 a+b 提取量较高且水平相当,而丙酮溶液的提取量都明显较少。

在图 3 中, $(a+b)1(A_{665}/A_{649})$ 曲线和 $(a+b)1(A_{663}/A_{645})$ 曲线重合, $(a+b)2(A_{665}/A_{649})$ 曲线和 $(a+b)2(A_{663}/A_{645})$ 曲线重合, $(a+b)3(A_{665}/A_{649})$ 曲线和 $(a+b)3(A_{663}/A_{645})$ 曲线重合,这说明 3 种浸提液各自在 665 和 649 nm 波长下及在 663 和 645 nm 波长下比色测得的叶绿素 a+b 含量相近,并且 $(a+b)1(A_{665}/A_{649})$ 、 $(a+b)1(A_{663}/A_{645})$ 、 $(a+b)2(A_{665}/A_{649})$ 、 $(a+b)2(A_{663}/A_{645})$ 4 条曲线 10 个品种的数值几近重合,6 个品种有数据差异,这种差异的形成主要因素可能是取材不均匀或试验操作失误造成的。这就说明乙醇丙酮混合液和乙醇溶液浸提枣树叶片中叶绿素 a+b 的效果基本一致。

结果表明单纯的丙酮溶液(80%)不能完全浸提枣树叶片中的叶绿素 a+b,而乙醇丙酮混合液(1:1)和乙醇(95%)都可高效浸提枣树叶片的叶绿素 a+b。

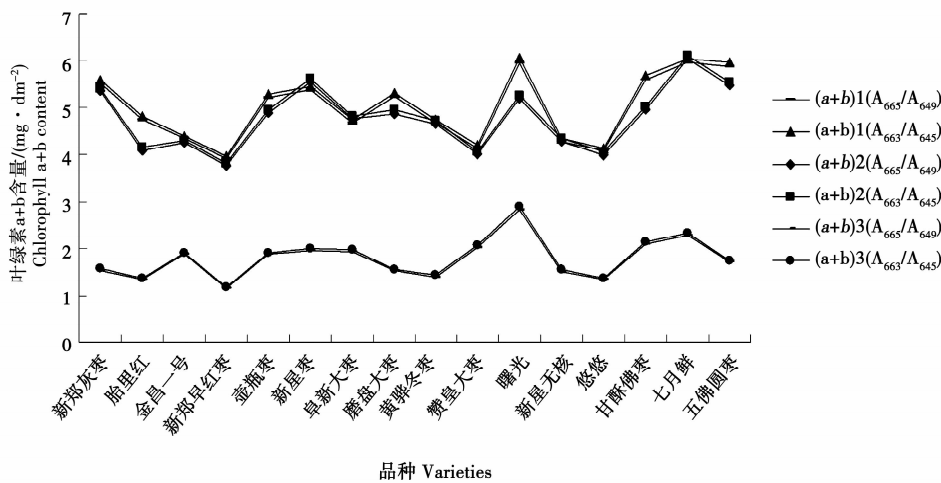


图 3 不同浸提液提取枣树叶片的叶绿素 a+b 含量

Fig. 3 The chlorophyll a+b content of jujube leaves in different extracts

3 结论与讨论

在 Arnon 提出的从植物中提取叶绿素的传统方法——丙酮法^[9]中,提取溶剂用丙酮溶液,由于研磨法提取麻烦,工作量大,提取过程中以及提取成功的叶绿素溶液中叶绿素易受光氧化破坏而引起误差。于是人们探索用二甲基亚砜法^[9],无水乙醇提取法^[10],丙酮、无水乙醇和蒸馏水混合

液法^[11]浸提植物材料提取叶绿素,但这些方法各有优劣,直到 1985 年张宪政^[1]采用丙酮和无水乙醇等量混合而成的提取液,直接浸泡提取剪成细丝的材料,才取得了满意的结果。叶绿素是光合作用的重要物质基础,它们位于植物细胞的叶绿体类囊体膜上,有机溶剂要提取叶绿素首先必须破坏细胞结构。研磨法中细胞结构已遭破坏,丙

酮溶液可直接提取叶绿素;浸提法中,有机溶剂要从结构完整的细胞中提取叶绿素,首先要溶解细胞成分破坏细胞结构,不同溶剂的浸提效果不同,除与溶剂本身的浸提能力有关,主要还与植物叶片的组织结构相关,不同的植物浸提效果不同。有关叶绿素测定的文献^[1-4]反映出,叶绿素浸提效果较好的提取液基本都是不同比例的乙醇丙酮混合溶液。洪法水^[2]认为用有机溶剂从叶片中直接提取叶绿素实际上是一种萃取反应,丙酮和乙醇混合浸提植物叶片叶绿素明显比丙酮、乙醇单独浸提的效率高,丙酮和乙醇间存在协同效应。本研究中用乙醇丙酮(1:1)、乙醇(95%)和丙酮(80%)3种不同提取液浸提枣树叶片中的叶绿素,乙醇丙酮混合液(1:1)的浸提效果高,与众人的研究结果一致,并且乙醇(95%)单独的浸提效果也高,浸提水平与乙醇丙酮混合液(1:1)的浸提效果相当,但是丙酮(80%)对枣树叶片中的叶绿素浸提就不完全,浸提效果很低。

本研究中叶绿素的测定结果表明,乙醇丙酮混合液(1:1)和乙醇(95%)都可分别作枣树叶片叶绿素 a、b、a+b 的浸提剂,而单纯的丙酮溶液(80%)不能独立作提取枣树叶片中叶绿素 a、b、a+b 的浸提剂。并且乙醇丙酮混合液(1:1)和乙醇(95%)这两种溶液的叶绿素浸提液在 665 和 649 nm 波长下及在 663 和 645 nm 波长下比色测得的叶绿素 a+b 含量基本相同。这个结果将会为田间枣树大量样品实时、准确的提取和测定提供有力支持。

尽管乙醇丙酮混合液(1:1)和乙醇(95%)对

枣树叶片中的叶绿素浸提效果相同,但从人体健康方面考虑,丙酮易挥发,有特殊的辛辣气味,大批量样品提取叶绿素时,操作人员数小时接触丙酮,眼睛受刺激要流泪,咽喉受刺激会咳嗽、口干想呕吐,皮肤受刺激有灼热感,头有眩晕等不同症状,实际上人体长期接触丙酮对健康的损害更大。相对丙酮,乙醇要环保的多。所以从对人体健康角度考虑,提取枣树叶片叶绿素的浸提剂,应首选乙醇(95%)溶液。

参考文献:

- [1] 张宪政. 植物叶绿素含量测定——丙酮乙醇混合液法[J]. 辽宁农业科学, 1986(3): 26-28.
- [2] 洪法水, 魏正贵, 赵贵文. 菠菜叶绿素的浸提和协同萃取反应[J]. 应用化学, 2001, 8(7): 532-535.
- [3] 任红, 罗丰, 许彦, 等. 菜心叶绿素测定方法比较研究[J]. 安徽农业科学, 2012, 40(3): 1455-1456.
- [4] 王红梅, 王永平, 陈丽如, 等. 三角槭秋叶色素的测定及时序变化分析[J]. 江苏农业科学, 2017, 45(20): 228-230.
- [5] 徐彩平, 刘霞, 陈宇炜. 浮游植物叶绿素 a 浓度测定方法的比较研究[J]. 生态与农村环境学报, 2013(4): 438-442.
- [6] 徐邦发, 徐雅丽. 棉花叶片的叶绿素含量测定[J]. 塔里木农垦大学学报, 1995, 7(2): 29-31.
- [7] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000: 35-160.
- [8] 张宪政. 植物叶绿素含量测定方法比较研究[J]. 沈阳农学院学报, 1985, 26(4): 82-84.
- [9] 吉田昌一. 水稻生理学实验手册[M]. 北京: 科学出版社, 1979: 38-40.
- [10] 牛岛忠店. 植物生产过程测定法[M]. 东京: 共立出版株式会社, 1981: 7-9.
- [11] 陈福明, 陈顺伟. 混合液法测定叶绿素含量的研究[J]. 浙江林业科技, 1984(1): 1-23, 36.

Effects of Different Solutions on Chlorophyll Extraction from Jujube Leaves

HU Bing-fen, HUANG Hua-li, JI Yuan-zu, ZHAO Xiao-fang, QI Jian-li, ZHANG Lu-he, ZHANG Guang-zhong

(Gansu Research Academy of Forestry Science and Technology, Lanzhou, Gansu 730020)

Abstract: In order to study the optimal extraction method effect of chlorophyll from jujube leaves, chlorophyll were extracted from 16 kinds of jujube varieties leaves using 95% ethanol, mixture of ethanol and acetone (1:1) and 80% acetone respectively, chlorophyll content was determined by spectrophotometry, the content of chlorophyll in different extracts was studied. The results showed that 80% acetone was not ideal for the extraction of chlorophyll from the leaves of jujube trees; 95% ethanol and mixed liquid of ethanol and acetone (1:1) have a good effect on the extraction of chlorophyll from the leaves of jujube trees, and the extraction level was quite the same. But acetone was harmful to human health. 95% ethanol was the first choice to extract chlorophyll from leaves of Chinese jujube.

Keywords: jujube trees chlorophyll; extraction; organic solvent