

一种新的叶绿素高效萃取剂及其应用方法

A NEW CHLOROPHYLL EXTRACTANT AND ITS USAGE

焦念志

(中国科学院海洋研究所 青岛 266071)

叶绿素是海洋生态学调查中必不可少的检测项目,也是反映浮游植物生物量乃至初级生产力水平的最简便而有效的指标。叶绿素测定的关键环节在于将叶绿素从细胞中有效地提取出来,因而选择适当的萃取剂是至关重要的。以往报道的萃取剂有:乙醇、乙醚、丙酮等。其中,以丙酮最为常用。这些萃取剂都存在一些缺点,如:提取时间长、提取过程中叶绿素 a 会降解、提取不完全,以及操作烦琐(如研磨、离心)等(Suzuki & Fujita, 1986; Porra *et al.*, 1989; Suzuki & Ishimaru, 1990)。为找到一种更合适的叶绿素提取剂,人们曾试验过多种有机溶剂。近几年的实验结果表明,N,N-二甲基甲酰胺(N,N-dimethylformamide,简记为 DMF)是比丙酮更为理想的叶绿素萃取剂(Moran & Porath, 1980; Moran, 1982; Inskip & Bloom, 1985; Suzuki & Fujita, 1986; Porra *et al.*, 1989)。Suzuki & Ishimaru (1990)用实验室培养的不同藻种和海洋自然浮游植物种群为材料,将 DMF 与丙酮在不同实验条件下的提取效果进行了全面的比较,为 DMF 的推广应用铺平了道路。

DMF 作为叶绿素萃取剂的主要优点是:(1)样品不需研磨,可直接放入 DMF 中浸泡萃取;(2)萃取时间只需 0.5h 即可(而丙酮萃取通常要 12~24h);(3)萃取效果受温度影响小,常温下和低温下操作均可;(4)萃取物相当稳定,冰箱中(4~5℃)避光条件下可贮存 1 个月;(5)DMF 的挥发损失极小,可忽略不计;(6)对叶绿素的

萃取率高于丙酮,特别是对脱镁色素尤为明显。

以 DMF 为萃取剂进行叶绿素测定的步骤非常简单:首先将样品滤于玻璃纤维滤膜(如,GF/F 或 GF/C)或 Nuclepore 滤膜上,然后将膜样浸入盛有适量(通常为 6~10ml)DMF 商品原液(AR 级)的萃取瓶中,在黑暗条件下(最好是冰箱中,5℃左右)放置 0.5h 后即可转移至比色管(杯)中用于测定。野外现场情况下,可将样品批量处理,萃取液贮存于黑暗条件下,数日内集中测定。叶绿素的 DMF 萃取液与丙酮萃取液光学性质极相似(如,二者在红光区的吸收峰分别是 663.5nm 和 663.7nm),可采用同样的测定条件进行分析(如,运用 Tuner Design 10R 荧光计测定时,用 5-60 号激发滤光片和 2-64 发射滤光片)。另外,DMF 对人体有害,应避免皮肤与其直接接触。

用 DMF 萃取法测定叶绿素可谓高效、快速、简便,且特别适合于野外大批量样品的处理。作者在东京湾、中赤道太平洋以及夏威夷近海的现场比较实验结果(另文发表)也证明了该法的实用性和有效性。目前,DMF 作为叶绿素萃取剂已被国外各主要海洋研究单位所采纳,并逐步取代丙酮。建议我国也尽早采用这一新的叶绿素高效萃取剂,以使我们的数据与国际同类研究资料具有直接可比性,并促进我国的有关研究早日与国际前沿全面接轨。