

植物花色苷含量试剂盒说明书

微量法 100 管/96 样

正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

测定意义：

花色苷是一类易溶于极性溶剂的天然色素，属黄酮类化合物。花色苷广泛存在于植物的根、茎、叶、花和果实中，使其呈现由红到紫等不同颜色，是植物主要的呈色物质。

测定原理：

采用 pH 示差法测定花色苷含量，当 pH 为 1.0 时花色苷在 530nm 处有最大吸收峰，而当 pH 为 4.5 时，花色苷转变为无色查尔酮形式，在 530 处无吸收峰，利用此特性分别测定在不同 pH 下的 530nm 和 700nm 处的吸光度值。pH 示差法减少了溶液 pH 和溶剂差异的影响，排除了其他非花色苷类物质对检测结果的干扰。

试剂的组成和配制：

产品名称	OX008-100T/96S	Storage
提取液：液体	100ml	4°C
试剂一：液体	20ml	4°C
试剂二：液体	20ml	4°C
说明书	一份	

需自备仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、水浴锅、可调式移液器、微量石英比色皿/96 孔板、研钵和蒸馏水。

花色苷的提取：

按照烘干样品质量 (g)：提取液体积(ml)为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 烘干样品，加入 1ml 提取液），充分匀浆后转移到 EP 管中，提取液定容至 1 ml，盖紧后 4°C 浸提 24 h，8000 g，常温离心 10 min，取上清液待测。

测定步骤：

- 1、分光光度计或酶标仪预热 30min 以上；试剂一和试剂二 25°C（室温）预热 10min 以上；
- 2、取 20 μ l 上清液和 180 μ l 试剂一（相当于稀释 10 倍），40°C 水浴 20min，分别测定 530nm 和 700nm 处的吸光值，分别记为 A1 和 A2。
- 3、取 20 μ l 上清液和 180 μ l 试剂二（相当于稀释 10 倍），40°C 水浴 20min，分别测定 530nm 和 700nm 处的吸光值，分别记为 A3 和 A4。

最终解释权所有 © 伊势久（江苏连云港）生物科技有限责任公司，保留一切权利



伊势久(江苏连云港)生物科技有限责任公司

江苏省连云港市海州区花果山大道 17 号



服务热线：0518-81263339

官网：<http://www.bio149.com>

4、计算 $\Delta A=(A1-A2)-(A3-A4)$

注意：

如果 A1 大于 1, 可以适当加大稀释倍数, 保证总体积 200 μ l 不变, 如 10 μ l 上清液和 190 μ l 试剂一 (相当于稀释 20 倍); 如果 A1 小于 0.1, 可以适当缩小稀释倍数, 保证总体积不变, 如 100 μ l 上清液和 100 μ l 试剂一 (相当于稀释 2 倍), 使 A1 保持在 0.1~1 范围内, 可提高检测灵敏度; 同样调整上清液和试剂二体积比例; 计算时以实际稀释倍数代入下述公式中。

花色苷含量计算：

a. 用微量石英比色皿测定的计算公式如下

$$\text{花色苷含量} (\mu\text{g/g 干重}) = [\Delta A \times V \div (\epsilon \times d) \times M \times F \times 106] \div W = 16.7 \times \Delta A \times F \div W$$

V: 提取液体积, 1×10^{-3} L; ϵ : 花色苷的摩尔消光系数, 2.69×10^4 L / mol / cm; d: 比色皿光径, 1cm;

M: 花色苷的相对分子质量: 449.2g/mol; F: 稀释倍数; 106: $1\text{g}=106\mu\text{g}$; W: 样本干重: g。

b.用 96 孔板测定的计算公式如下

$$\text{花色苷含量} (\mu\text{g/g 干重}) = [\Delta A \times V \div (\epsilon \times d) \times M \times F \times 106] \div W = 33.4 \times \Delta A \times F \div W$$

V: 提取液体积, 1×10^{-3} L; ϵ : 花色苷的摩尔消光系数, 2.69×10^4 L / mol / cm; d: 96 孔板光径, 0.5cm;

M: 花色苷的相对分子质量: 449.2g/mol; F: 稀释倍数; 106: $1\text{g}=106\mu\text{g}$; W: 样本干重: g。

ΔA 线性范围为 0.005-0.5。

