

## 植物花色苷含量试剂盒

微量法 100 管/96 样

**注意：**正式测定前取 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干扰。

### 需自备的仪器和用品：

酶标仪、水浴锅、可调式移液器、96 孔板、超声波清洗器、研钵和蒸馏水。

### 试剂的组成和配制：

提取液：液体 100 mL × 1 瓶，4℃ 保存；

试剂一：液体 20 mL × 1 瓶，4℃ 保存；

试剂二：液体 20 mL × 1 瓶，4℃ 保存；

### 花色苷的提取：

按照样品质量 (g)：提取液体积 (mL) 为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 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，盖紧后超声波提取 2 h，8000 g，常温离心 10 min，取上清液待测。

### 测定步骤：

- 1、酶标仪预热 30min 以上；试剂一和试剂二 25℃（室温）预热 10min 以上；
- 2、取 20 μL 上清液和 180 μL 试剂一（相当于稀释 10 倍），40℃ 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 μL 上清液和 180 μL 试剂二（相当于稀释 10 倍），40℃ 水浴 20min，分别测定 530nm 和 700nm 处的吸光值，分别记为 A3 和 A4。
- 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 μL 不变，如 10 μL 上清液和 190 μL 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 μL 上清液和 100 μL 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:**

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

V: 提取液体积,  $1 \times 10^{-3}\text{L}$ ;  $\epsilon$ : 花色苷的摩尔消光系数,  $2.69 \times 10^4 \text{ L/mol/cm}$ ; d: 96 孔板光径,  $0.5\text{cm}$ ; M: 花色苷的相对分子质量:  $449.2\text{g/mol}$ ; F: 稀释倍数; 106:  $1\text{g}=106\mu\text{g}$ ; W: 样本干重: g。  
A 线性范围为 0.005-0.5。