

## 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。

需自备的仪器和用品：

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。

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℃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℃（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：

a.用微量石英比色皿测定的计算公式如下

花色苷含量（μg/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<sup>-3</sup>L；ε：花色苷的摩尔消光系数，2.69×10<sup>4</sup> 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；106：1g=106μg；W：样本干重：g。

b.用96孔板测定的计算公式如下

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,  $1 \times 10^{-3} \text{L}$ ;  $\epsilon$ : 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。  $\Delta A$ 线性范围为**0.005-0.5**。

---

[www.affandi-e.com](http://www.affandi-e.com)