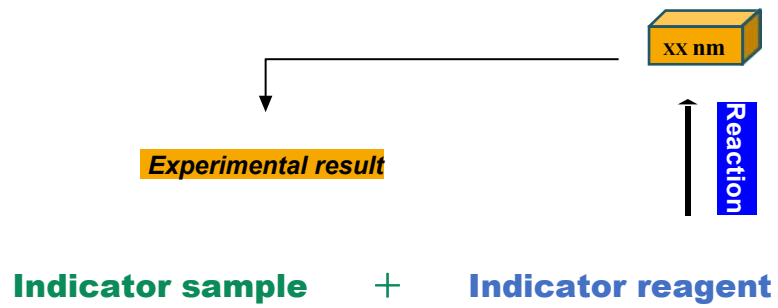


上海茁彩生物科技有限公司
Shanghai zcibio technology Co.,Ltd.



生化检测原理示意图

植物花色苷检测试剂盒说明书

微量法

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：

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 100 mL × 1 瓶	4°C保存	-
试剂一	液体 20 mL × 1 瓶	4°C保存	-
试剂二	液体 20 mL × 1 瓶	4°C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1mL，盖紧后4°C浸提24 h，8000g，常温离心10min，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；试剂一和试剂二预热10min以上；
- 2、取20μL上清液和180 μL试剂一（相当于稀释10倍），静置15min，分别测定530nm和700nm处的吸光值，分别记为A1和A2。
- 3、取20μL上清液和180μL试剂二（相当于稀释10倍），静置15min，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

$$\text{花色苷含量} (\mu\text{g/g 干重}) = [\Delta A \times V \div (\epsilon \times d) \times M \times F \times 10^6] \div W = 16.7 \times \Delta A \times F \div W$$

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; 10^6 : $1\text{g}=10^6\mu\text{g}$; W: 样本干重: g。

b. 用96孔板测定的计算公式如下

$$\text{花色苷含量} (\mu\text{g/g 干重}) = [\Delta A \times V \div (\epsilon \times d) \times M \times F \times 10^6] \div W = 33.4 \times \Delta A \times F \div W$$

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; 10^6 : $1\text{g}=10^6\mu\text{g}$; W: 样本干重: g。

注意: 最低检测限为 $0.2 \mu\text{g/g}$ 干重