

## 植物花色苷含量检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
PYHD2-C24	植物花色苷含量检测试剂盒	24T	常量法
PYHD2-C48		48T	

### 一、测定意义

植物花色苷是广泛存在于植物中的水溶性黄酮类色素，能够使植物呈现由红到紫等不同颜色，并且作为一种安全无毒、来源广泛、种类繁多且具有多种保健功能的天然色素，在食品、化妆品、医药等领域具有重要的开发利用价值和应用前景。

### 二、测定原理

采用 pH 示差法测定花色苷含量：当 pH=1.0 时花色苷在 530 nm 处具有特征吸收峰，当 pH=4.5 时，花色苷转变为无色查尔酮形式在 530 nm 处无吸收峰，利用此特性分别测定在不同 pH 条件下 530 nm 和 700 nm 处吸光值，即可定量检测植物花色苷的含量。

### 三、试剂组成

试剂名称	试剂装量 (24T)	试剂装量 (48T)	保存条件
提取液	液体 30 mL×1 瓶	液体 60 mL×1 瓶	2-8°C 保存
试剂一	液体 25 mL×1 瓶	液体 50 mL×1 瓶	2-8°C 保存
试剂二	液体 25 mL×1 瓶	液体 50 mL×1 瓶	2-8°C 保存

### 四、操作步骤

#### 一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

取一定量植物组织擦净水分及杂质，剪碎后放入研钵，加入液氮，研磨成粉状后转移出来，然后准确称重，按照组织质量 (g)：提取液体积 (mL) 为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，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 60°C 浸提 30min，期间可震荡数次。12000rpm，常温离心 10min，取上清液待测。

#### 二、测定步骤

1、分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 530nm 和 700nm，蒸馏水调零；

2、操作表（在 1mL 比色皿中依次加入下列试剂）：

试剂名称	测定管 1	测定管 2
上清液 (μL)	100	100
试剂一 (μL)	900	-
试剂二 (μL)	-	900

充分混匀后测定测定管 1 和测定管 2 分别在 530nm 和 700nm 处的吸光度，测定管 1 在 530nm 和 700nm 处的吸光值记为 A1、A1'，测定管 2 在 530nm 和 700nm 处的吸光值记为 A2、A2'，计算  $\Delta A = (A1 - A1') - (A2 - A2')$ 。

## 五、花色苷含量的计算：

### 1. 按样本质量计算：

花色苷含量 ( $\mu\text{mol/g}$  质量) =  $[\Delta A \div (\varepsilon \times d) \times 10^3 \times F] \times V_{\text{提取}} \div W = 0.037 \times \Delta A \times F \div W$ 。

### 2. 按样本蛋白浓度计算：

花色苷含量 ( $\mu\text{mol/mg prot}$ ) =  $[\Delta A \div (\varepsilon \times d) \times 10^3 \times F] \times V_{\text{提取}} \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{提取}})$   
=  $0.037 \times \Delta A \times F \div C_{\text{pr}}$ 。

F: 稀释倍数，该反应体系下为 10; d: 比色皿光径，1cm; W: 样本质量，g;  $\varepsilon$ : 花色苷的摩尔消光系数， $2.69 \times 10^4 \text{ mL/mmole/cm}$ ;  $V_{\text{提取}}$ : 提取液总体积，1mL;  $10^3$ : 单位换算系数， $1 \text{ mmole} = 10^3 \mu\text{mol}$ ;  $C_{\text{pr}}$ : 样本蛋白浓度，mg/mL (蛋白浓度需用 PBS 单独提取后自行测定)。

## 六. 注意事项:

1、如果 A1 大于 1，可以适当加大稀释倍数，保证总体积 1mL 不变，如 50 $\mu\text{L}$  上清液和 950 $\mu\text{L}$  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 500 $\mu\text{L}$  上清液和 500 $\mu\text{L}$  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; 注意应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。

2、因提取液会使蛋白变性，若使用蛋白浓度计算需用 PBS 单独提取后自行测定。