

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-M48	植物花色苷含量检测试剂盒	48T	微量法
PYHD2-M96		96T	

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 (48T)	试剂装量 (96T)	保存条件
提取液	液体 60 mL×1 瓶	液体 110 mL×1 瓶	2-8°C 保存
试剂一	液体 10 mL×1 瓶	液体 20 mL×1 瓶	2-8°C 保存
试剂二	液体 10 mL×1 瓶	液体 20 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、酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 530nm 和 700nm，蒸馏水调零；
- 2、操作表（在微量比色皿/96 孔板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)	20	20
试剂一 (μL)	180	-
试剂二 (μL)	-	180

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：

A、以微量玻璃比色皿计算：

1. 按样本质量计算：

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

2. 按样本蛋白浓度计算：

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

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； ϵ : 花色苷的摩尔消光系数， $2.69 \times 10^4 \text{ mL/mmol/cm}$ ； $V_{\text{提取}}$: 提取液总体积，1mL； 10^3 : 单位换算系数， $1 \text{ mmol} = 10^3 \mu\text{mol}$ ； C_{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）。

B、以 96 孔板计算：

1. 按样本质量计算

花色苷含量 ($\mu\text{mol/g}$ 质量) = $[\Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^3 \times F] \times V_{\text{提取}} \div W = 0.062 \times \Delta A \times F \div W$ 。

2. 按样本蛋白浓度计算

花色苷含量 ($\mu\text{mol/mg prot}$) = $[\Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^3 \times F] \times V_{\text{提取}} \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{提取}})$
= $0.062 \times \Delta A \times F \div C_{\text{pr}}$ 。

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； ϵ : 花色苷的摩尔消光系数， $2.69 \times 10^4 \text{ mL/mmol/cm}$ ； $V_{\text{提取}}$: 提取液总体积，1mL； 10^3 : 单位换算系数， $1 \text{ mmol} = 10^3 \mu\text{mol}$ ； C_{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 10 μL 上清液和 180 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；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。