

总花青素(总花色苷)含量检测试剂盒说明书

(货号: PB1174W96 微量法 96样)

有效期: 3个月

一、产品简介:

花青素是一种广泛存在于自然界植物中的水溶性天然色素,但是在自然状态下常与各种单糖形成糖苷形式存在,即花色苷。它是植物细胞中可见的植物水溶性色素,存在于几乎所有的陆地植物的根、茎、叶、花及果实中;且还具有较强的抗氧化活性,能够清除自由基。

本试剂盒采用 PH 示差法,花色苷的颜色随 PH 值的改变而发生变化,而干扰物质的特征光谱不随 PH 的改变而变化。pH 为 1 时,花色苷以红色的 2-苯基苯并吡喃的形式存在。pH 为 4.5 时,花色苷以无色的甲醇假碱形式存在,通过确定两个对花色苷吸光度差别最大,但是对花色苷稳定的 pH 值(一般选 pH 值为

1.0 和 4.5,在最大吸收波长为 700 nm 处,花色苷溶液的吸光度差值与花色苷的含量成比例,进而计算出花色苷总量。

二、试剂盒组分与配制:

试剂名称 规格 保存要求

提取液 液体 110mL×1 瓶 4℃保存

试剂一 液体 30mL×1 瓶 4℃保存

试剂二 液体 30mL×1 瓶 4℃保存

三、所需的仪器和用品:

酶标仪、96 孔板、水浴锅、可调式移液器、研钵和蒸馏水。

四、总花青素含量的测定:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定,了解本批样品情况,熟悉实验流程,避免实验样本和试剂浪费!

1、样本制备

① 组织样本:

称约 0.05g 样品(水分充足的样本,可取样 0.5g),加入 1mL 提取液,75℃震荡提取 25min,若提取过程中提取液有损失,最后可用提取液定容至 1mL 后,室温 12000rpm,离心 10 min,上清液待测。

【注】:若是固体干样本,先磨碎并过 40 目筛后,取 0.02g 的过筛后干样,加入 1 mL 提取液,其他步骤同上。最后离心得到的上清液待测。

② 液体样本:

澄清的液体的样本直接测定,若浑浊则离心后取上清液检测。

2、上机检测

① 酶标仪预热 30min 以上,对于含量较高的样本,可先选取 2 个样本做预测定,找出适合本次

试剂名称(μL)	测定管	对照管
上清液	100	100
试剂一	300	
试剂二		300



室温避光平衡 60min，分别取 200 μ L 澄清液体（若浑浊可 12000rpm 室温离心 5min）至 96 孔板中，于 530nm 和 700nm 处读值。测定管记作 $A_{\text{测定}}=A_{530}-A_{700}$ ；对照管记作 $A_{\text{对照}}=A_{530}-A_{700}$ ； $\Delta A=A_{\text{测定}}-A_{\text{对照}}$ （每个样本需做一个自身对照）。

检测样本的稀释倍数 D （用蒸馏水进行稀释即可）。

【注】：1.若 $A_{\text{测定}}$ 于 530nm 处的值大于 1.5，则上清液可用提取液进行稀释，稀释后的上清液再按照上述加样表操作。稀释倍数 D 需代入计算公式计算。

2.若 ΔA 值小于 0.01，可增加样本取样质量 W ，则改变后的 W 需代入计算公式重新计算。

结果计算：

1、按照样本质量计算：

$$\begin{aligned}\text{总花青素含量}(\text{mg/g}) &= (\Delta A \div (\varepsilon \times d) \times V_2 \times 103 \times \text{Mr}) \div (W \times V_1 \div V) \times D \\ &= 0.1336 \times \Delta A \div W \times D\end{aligned}$$

2、按照样本浓度计算：

$$\begin{aligned}\text{总花青素浓度}(\text{mg/mL}) &= (\Delta A \div (\varepsilon \times d) \times V_2 \times 103 \times \text{Mr}) \div V_1 \times D \\ &= 0.1336 \times \Delta A \times D\end{aligned}$$

ε ---为矢车菊-3-葡萄糖苷消光系数，26900 L/mol/cm； Mr ---为矢车菊素-3-葡萄糖苷分子量，449.2；

d ---光程，0.5 cm； D ---稀释倍数，未稀释即为 1；

V ---样本提取液，1mL； W ---样本重量，g； V_1 ---检测操作表里上清液加样体积，100 μ L=0.1mL；

V_2 ---检测总体积，400 μ L=4 $\times 10^{-4}$ L；