

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：

花色苷在 520nm 有最大吸光值，采用酸性乙醇溶液提取，单波长比色法测定花色苷含量。

需自备的仪器和用品：

酶标仪、水浴锅、可调式移液器、96 孔板、超声波清洗器、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；

花色苷的提取：

按照样品质量（g）：提取液体积(mL)为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 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 75℃提取 20min，8000 g，常温离心 10 min，取上清液待测。

测定步骤：

1、酶标仪预热 30min 以上；试剂一 25℃（室温）预热 10min 以上；

2、取 10 μL 上清液和 190 μL 试剂一加入 96 孔板，测定 520nm 处的吸光值，记为 A 测定。

3、取 10 μL 提取液和 190 μL 试剂一加入 96 孔板，测定 520nm 处的吸光值，记为 A 空白。

$\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$

花色苷含量计算：

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

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，20； 10^6 ： $1\text{g} = 10^6 \mu\text{g}$ ；W：样本干重：g。