

使用说明书

Instruction Manual

花色苷含量检测试剂盒（微量法）

Anthocyanin Assay Kit (Microanalysis)

产品描述

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。

检测原理

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。

产品组成及储存条件

100T/96S 规格的产品组成如下：

组成	规格	储存条件
CB0027M-ES	100ml ×1 瓶	2-8℃保存
CB0027M-A	20ml ×1 瓶	2-8℃保存
CB0027M-B	20ml ×1 瓶	2-8℃保存

注：正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

操作说明

一、自备用品：

可见分光光度计/酶标仪、水浴锅、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96 孔板、研钵和蒸馏水。

二、花色苷的提取：

按照烘干样品质量（g）：提取液 CB0027M-ES 体积(mL)为 1：5-10 的比例（建议称取约 0.1g 烘干样品，加入 1mL CB0027M-ES），充分匀浆后转移到 EP 管中，CB0027M-ES 定容至 1 mL，盖紧后 60℃浸提 0.5 h，期间可震荡数次，8000 g，常温离心 10 min，取上清液待测。

三、测定步骤：

- 分光光度计或酶标仪预热 30min 以上；CB0027M-A 和 CB0027M-B 室温（25℃）预热 10min 以上。
- 取 20 μ L 上清液和 180 μ L CB0027M-A（相当于稀释 10 倍），40℃水浴 20min，分别测定 530nm 和 700nm 处的吸光值，分别记为 A1 和 A2。
- 取 20 μ L 上清液和 180 μ L CB0027M-B（相当于稀释 10 倍），40℃水浴 20min，分别测定 530nm 和 700nm 处的吸光值，分别记为 A3 和 A4。
- 计算 $\Delta A = (A1 - A2) - (A3 - A4)$

注：如果 A1 大于 1，可以适当加大稀释倍数，保证总体积 200 μ L 不变，如 10 μ L 上清液和 190 μ L CB0027M-A（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 μ L 上清液和 100 μ L CB0027M-A（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 CB0027M-B 体积比例；计算时以实际稀释倍数代入下述公式中。

四、花色苷含量计算：

a. 用微量玻璃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。

注意事项

1. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
2. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

