



花色苷含量检测试剂盒

Anthocyanin Assay Kit

微量法

产品编号：AK358M

产品规格：100T/96S

产品组成及保存条件：

编号	规格	储存条件
ES358	100ml ×1 瓶	2-8℃保存；
AK358-A	20ml ×1 瓶	2-8℃保存；
AK358-B	20ml ×1 瓶	2-8℃保存；

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

简介：

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。

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。

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。

花色苷的提取：

按照烘干样品质量 (g) : ES358 体积(mL)为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g 烘干样品，加入 1mL ES358)，充分匀浆后转移到 EP 管中，ES358 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。

测定步骤：

1. 分光光度计或酶标仪预热 30min 以上；AK358-A 和 AK358-B 室温 (25℃) 预热 10min 以上；
2. 取 20 μL 上清液和 180 μL AK358-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。
3. 取 20 μL 上清液和 180 μL AK358-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。
4. 计算 $\Delta A = (A1 - A2) - (A3 - A4)$

注意：如果 A1 大于 1，可以适当加大稀释倍数，保证总体积 200 μL 不变，如 10 μL 上清液和 190 μL AK358-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 μL 上清液和 100 μL AK358-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 AK358-B 体积比例；计算时以实际稀释倍数代入下述公式中。

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, $1 \times 10^{-3} \text{L}$; ϵ : 花色苷的摩尔消光系数, $2.69 \times 10^4 \text{ L/mol/cm}$; 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

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, $1 \times 10^{-3} \text{L}$; ϵ : 花色苷的摩尔消光系数, $2.69 \times 10^4 \text{ L/mol/cm}$; 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。