

植物花色苷含量检测试剂盒说明书

微量法

货号: BC1385

规格: 100T/48S

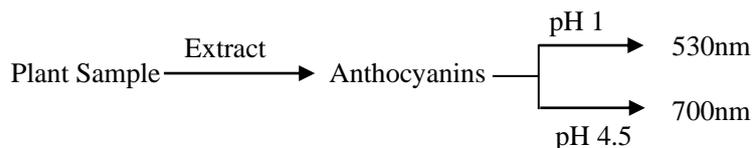
产品组成: 使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致, 有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体 50 mL×1 瓶	2-8°C保存
试剂一	液体 15 mL×1 瓶	2-8°C保存
试剂二	液体 15 mL×1 瓶	2-8°C保存

产品说明:

花色苷是一类可食用的易溶于水等溶剂的天然色素。花色苷使植物呈现多彩的颜色, 本身更具有多种保健作用, 因而在天然食用色素、保健品和医药行业都有着广阔的应用前景。

根据花色苷在不同pH下的结构性质测定花色苷含量, 在pH为1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530nm处无吸收峰, 通过测定不同pH下的530nm和700nm处的吸光度值计算样本中花色苷的含量。



注意: 实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

需自备的仪器和用品:

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

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)

按照样本质量 (g): 提取液体积(mL)为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g 样本, 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. 可见分光光度计/酶标仪预热30min以上, 可见分光光度计蒸馏水调零。
2. 加样表: 在96孔板中分别加入

试剂名称 (μL)	测定管1	测定管2
样本	20	20
试剂一	180	-
试剂二	-	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 $\Delta A = (A1 - A1') - (A2 - A2')$ 。

三、花色苷含量计算

A、以微量玻璃比色皿计算：

1. 按样本质量计算：

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

2. 按样本蛋白浓度计算

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

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， $2.69 \times 10^4 \text{ mL/mmole/cm}$ ；V_{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

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

2. 按样本蛋白浓度计算

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

F：稀释倍数，该反应体系下为10；d：96孔板光径，0.6cm；W：样本质量，g； ϵ ：花色苷的摩尔消光系数， $2.69 \times 10^4 \text{ mL/mmole/cm}$ ；V_{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）。

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200 μL 不变，如10 μL 上清液和190 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计算公式中。
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。

实验实例：

- 1、取 0.1g 葡萄皮加入 1mL 提取液充分匀浆后转移到 EP 管中，封口膜封口防止挥发，60 $^{\circ}\text{C}$ 浸提 30min，期间可震荡数次，提取后提取液定容至 1mL，离心取上清后按照测定步骤操作，用 96 孔板测得计算 $\Delta A = (A1 - A1') - (A2 - A2') = (0.573 - 0.060) - (0.120 - 0.060) = 0.453$ ，按样本质量计算含量得：
花色苷含量 ($\mu\text{mol/g 质量}$) = $0.062 \times \Delta A \times F \div W = 0.062 \times 0.453 \times 10 \div 0.1 = 2.81 \mu\text{mol/g 质量}$ 。

相关系列产品：

- BC1300/BC1305 铜蓝蛋白 (Cp) 活性检测试剂盒
- BC1310/BC1315 总抗氧化能力 (T-AOC) 检测试剂盒
- BC1360/BC1365 尿酸 (UA) 含量检测试剂盒