

## 总花青素(总花色苷)含量检测试剂盒说明书

(货号: ADS-F-KY016-48 分光法 48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(一般选择 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,进而计算得出花色苷总量。

### 二、试剂盒组分与配制:

试剂名称	规格	保存要求
提取液	液体 50mL×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:

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿(光径 1cm)、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 可见分光光度计预热 30min 以上,用蒸馏水调零。

② 对于含量较高的样本,可先选取 2 个样本做预测定,找出适合本次检测样本的稀释倍数 D(用蒸馏水进行稀释即可)。

③ 在 EP 管中依次加入:

试剂名称 (μL)	测定管	对照管
上清液	200	200
试剂一	600	
试剂二		600

室温避光平衡 60min,分别取全部澄清液体(若浑浊可 12000rpm 室温离心 5min)至 1mL 玻璃比色皿(光径 1cm)中,于 530nm 和 700nm 处读值。测定管记作 A 测定=A530-A700;对照管记作 A 对照=A530-A700;ΔA=A 测定-A 对照(每个样本需做一个自身对照)。

【注】:1. 若 A 测定管于 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。

五、结果计算：

1、按照样本质量计算：

$$\text{总花青素含量 (mg/g)} = (\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_2 \times 103 \times Mr) \div (W \times V_1 \div V) \times D \\ = 0.0668 \times \Delta A \div W \times D$$

2、按照样本浓度计算：

$$\text{总花青素浓度 (mg/mL)} = (\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_2 \times 103 \times Mr) \div V_1 \times D \\ = 0.0668 \times \Delta A \times D$$

$\epsilon$  ---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，1cm；  $D$ ---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，200 $\mu$ L=0.2mL；

$V_2$ ---检测总体积，800 $\mu$ L =8 $\times 10^{-4}$ L；

L；