

植物花色苷含量检测试剂盒说明书

可见分光光度法

货号：BC1380

规格：50T/24S

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 30 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	液体 30 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	液体 30 mL×1 瓶	2-8℃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。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计、离心机、水浴锅、可调式移液器、1mL玻璃比色皿、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，封口膜封口防止挥发，60℃浸提 30min，期间可震荡数次，提取后提取液定容至 1mL。12000rpm，常温离心 10min，取上清液待测。

二、测定步骤

1. 可见分光光度计预热30min以上，蒸馏水调零。
2. 加样表：

试剂名称（μL）	测定管1	测定管2
样本	100	100
试剂一	900	-
试剂二	-	900

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

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

- 如果 A1 大于 1, 可以适当加大稀释倍数, 保证总体积 1mL 不变, 如 50 μ L 上清液和 950 μ L 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 500 μ L 上清液和 500 μ L 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。
- 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:

- 取 0.1g 西梅皮加入 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 $^{\circ}$ 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, 测得计算 $\Delta A = (A1 - A1') - (A2 - A2') = (0.249 - 0.101) - (0.133 - 0.065) = 0.08$, 按样本质量计算含量得:
 $\text{花色苷含量} (\mu\text{mol/g 质量}) = 0.037 \times \Delta A \times F \div W = 0.037 \times 0.08 \times 10 \div 0.1 = 0.296 \mu\text{mol/g 质量}$ 。

相关发表文献:

- [1] Hu H, Zhou XY, Wang YS, Zhang YX, Zhou WH, Zhang L. Effects of particle size on the structure, cooking quality and anthocyanin diffusion of purple sweet potato noodles. Food Chem X. 2023 Apr 3;18:100672. doi: 10.1016/j.fochx.2023.100672. PMID: 37091512; PMCID: PMC10114142.
- [2] Shan C, Luo Y, Yang C, Gao X. The Effects of Poly- γ -Glutamic Acid on the Postharvest Physiology and Quality of Strawberry cv. Hongyan during Cold Storage. Foods. 2023 Aug 3;12(15):2944. doi: 10.3390/foods12152944. PMID: 37569213; PMCID: PMC10419068.
- [3] Sylvia C, Sun J, Zhang Y, Ntini C, Ogutu C, Zhao Y, Han Y. Genome-Wide Analysis of ATP Binding Cassette (ABC) Transporters in Peach (*Prunus persica*) and Identification of a Gene PpABCC1 Involved in Anthocyanin Accumulation. Int J Mol Sci. 2023 Jan 18;24(3):1931. doi: 10.3390/ijms24031931. PMID: 36768256; PMCID: PMC9916050.
- [4] Dai Y, Zhang L, Sun X, Li F, Zhang S, Zhang H, Li G, Fang Z, Sun R, Hou X, Zhang S. Transcriptome analysis reveals anthocyanin regulation in Chinese cabbage (*Brassica rapa* L.) at low temperatures. Sci Rep. 2022 Apr 15;12(1):6308. doi: 10.1038/s41598-022-10106-1. PMID: 35428824; PMCID: PMC9012755.
- [5] Zhang J, Zhao J, Tan Q, Qiu X, Mei S. Comparative transcriptome analysis reveals key genes associated with pigmentation in radish (*Raphanus sativus* L.) skin and flesh. Sci Rep. 2021 Jun 1;11(1):11434. doi: 10.1038/s41598-021-90633-5. PMID: 34075070; PMCID: PMC8169917.

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

