

Anthocyanin Content Assay Kit

花青素/总花色苷含量测定试剂盒 微板法

产品编号	产品名称	规格
BL1753B	花青素/总花色苷含量测定试剂盒 微板法	96T

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），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。

产品组成:

试剂名称	规格	保存要求
提取液	110mL×1 瓶	4°C保存
试剂一	30mL×1 瓶	4°C保存
试剂二	30mL×1 瓶	4°C保存

使用方法:

建议正式实验前，选取 2 个样本做预测定，了解实验样品情况，熟悉流程，避免样本和试剂浪费。

一、样本准备

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°C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；
- 12000rpm 室温离心 10min，取上清待测。

2. 液体样本:

直接检测；若浑浊，离心后取上清检测。

二、样品测定

- 酶标仪预热 30min 以上。
- 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（用提取液进行稀释即可）。
- 在离心管中依次加入：

试剂名称 (μL)	测定管	对照管
上清液	100	100
试剂一	300	-
试剂二	-	300

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.
注意：在体外研究使用，不用于诊断或治疗用途，本产品不是医疗装置。



室温避光平衡 60min，分别取 200 μ L 澄清液体（若浑浊可 12000rpm 室温离心 5min）至 96 孔板中，于 530nm 和 700nm 处读值。测定管记作 $A_{测定}$ ； $A_{测定}=A_{530}-A_{700}$ ；对照管记作 $A_{对照}=A_{530}-A_{700}$ ； $\Delta A=A_{测定}-A_{对照}$ （每个样本需做一个自身对照）。

【注】1.若 $A_{测定}$ 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。

三、结果计算

1. 按照样本质量计算：

$$\begin{aligned} \text{总花青素含量(mg/g)} &= (\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_2 \times 10^3 \times Mr) \div (W \times V_1 \div V) \times D \\ &= 0.1336 \times \Delta A \div W \times D \end{aligned}$$

2. 按照样本浓度计算：

$$\begin{aligned} \text{总花青素浓度(mg/mL)} &= (\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_2 \times 10^3 \times Mr) \div V_1 \times D \\ &= 0.1336 \times \Delta A \times D \end{aligned}$$

ϵ ---为矢车菊-3-葡萄糖苷消光系数，26900 L/mol /cm

d ---光程，0.5cm

Mr ---为矢车菊素-3-葡萄糖苷分子量，449.2

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，100 μ L=0.1mL

V_2 ---检测总体积，400 μ L=4 $\times 10^{-4}$ L

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。
2. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期：

4 $^{\circ}$ C保存六个月。

