



## 花色苷含量检测试剂盒

### Anthocyanin Assay Kit

分光光度法

产品编号: AK358V

产品规格: 50T/48S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
ES358	50ml ×1 瓶	2-8℃保存;
AK358-A	50ml ×1 瓶	2-8℃保存;
AK358-B	50ml ×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、水浴锅、可调式移液器、1mL 玻璃比色皿、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 4℃浸提 24 h, 8000 g, 25℃离心 10 min, 取上清液待测。

#### 测定步骤:

1. 分光光度计预热 30min 以上; AK358-B 和 AK358-B 预热 10min 以上。
2. 取 100 μL 上清液和 900 μL AK358-A (相当于稀释 10 倍), 40℃水浴 20min, 分别测定 530nm 和 700nm 处的吸光度, 分别记为 A1 和 A2。
3. 取 100 μL 上清液和 900 μL AK358-B (相当于稀释 10 倍), 40℃水浴 20min, 分别测定 530nm 和 700nm 处的吸光度, 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 1mL 不变, 如 50 μL 上清液和 950 μL AK358-B (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 200 μL 上清液和 800 μL AK358-A (相当于稀释 5 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:

花色苷含量 (μg/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: AK358-A 体积,  $1 \times 10^{-3}$  L;  $\epsilon$ : 花色苷的摩尔消光系数,  $2.69 \times 10^4$  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;  $10^6$ :  $1g = 10^6 \mu g$ ; W: 样本干重: g。