总花色苷含量检测试剂盒说明书

规格：48 样　　方法：酶标仪法

一、注意事项

1. 使用前请通读一遍说明书再开始实验。

2. 正式检测前选取 2~3 个样本进行预检测。

3. 本试剂盒仅用于科研。

二、产品组分

试剂名称	试剂规格	保存条件	备注
提取液	55 mL×1	4℃	
试剂一	10 mL×1	4℃	
试剂二	10 mL×1	4℃	

三、仪器和用品

酶标仪、96 孔板、移液器、天平、可降温离心机、超纯水/蒸馏水、研磨仪/研钵、冰、水浴锅。

四、样品制备

1. 干样：粉碎，过 40 目筛后称取 0.02 g，加入 1 mL 提取液研磨匀浆，75℃震荡提取 25 min，若提取过程中提取液有损失，最后可用提取液定容至 1 mL 后，室温 12000 rpm，离心 10 min，取上清液待测。

2. 鲜样：称取 0.05 g 组织样本（水分充足样本可取 0.5 g），加入 1 mL 提取液研磨匀浆，75℃震荡提取 25 min，若提取过程中提取液有损失，最后可用提取液定容至 1 mL 后，室温 12000 rpm，离心 10 min，取上清液待测。

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。

五、测定步骤

1.酶标仪预热 30 min 以上，波长调至 530 nm 和 700 nm 处。

2.在 96 孔板中依次加入：

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

试剂二	-	300
室温避光静置60 min，取200 μL上清液（若浑浊，可于室温12000 rpm离心5 min）移至96孔板中，于530 nm和700 nm处读值。测定管记作A测定=A530测定-A700测定，对照管记作A对照=A530对照-A700对照，ΔA=A测定-A对照（每个样本需做一个自身对照）。		

六、计算

1. 按照样本质量计算

总花色苷含量（mg/g）=（ΔA÷（ε×d）×V2×10^3×Mr）÷（W×V1÷V）×D=0.1336×ΔA÷W×D

2. 按样本浓度计算

总花色苷浓度（mg/mL）=（ΔA÷（ε×d）×V2×10^3×Mr）÷V1×D=0.1336×ΔA×D

ε：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，0.5 cm；V：样本提取液，1 mL；V1：检测操作表里上清液加样体积，100 μL=0.1 mL；V2：检测总体积，400 μL=4×10^{-4} L。

七、产品简介

总花色苷是植物次生代谢产生的一类水溶性天然色素，属类黄酮化合物，以糖苷形式存在于植物液泡中。主要功能是赋予植物花、叶、果实等器官呈现红、紫、蓝等颜色，在植物授粉吸引、逆境胁迫响应及抗氧化防御中发挥重要作用，是评价植物着色程度、成熟度及营养品质的重要生理指标。