

## 花青素(Anthocyan)检测试剂盒(微板法)说明书

本产品仅供体外研究使用，不得用于临床诊断

### 产品简介：

花青素(anthocyan,cyanidin)又称花色素(anthocyanidin)，属黄烷衍生物，溶解于细胞液中，是植物体内广泛分布的花色素之一，是花色素苷(anthocyanins,anthocyanin)水解而得的有颜色的苷元，植物体内存在花青素、叶绿素、类胡萝卜素、类黄酮、酚类等物质与花、果实和叶片的颜色有关，而且与果实等样品衰老过程密切相关，对其加工性能、存储、营养价值等都有重要影响。

植物花青素检测试剂盒(微板法)检测原理是花青素溶于有机溶剂，以有机溶剂粗提花青素，花青素在酸性溶液中呈红色，颜色深浅与花青素含量呈正比，于 530nm 有最大吸收波，可利用酶标仪测定其吸光度，进而计算出花青素的含量，方法简单易行。因组织中花青素种类不同，所需标准品亦不同，该试剂盒不含标准品，因此只能检测花青素的相对含量；如需检测样品中花青素的准确含量，请自备对应种类的花青素标准品，主要用于植物组织或果实中花青素的提取以及定量检测花青素相对含量。该试剂盒仅用于科研领域，不适用于临床诊断或其他用途。

### 产品组成：

名称	规格	保存条件	说明书	有效期
花青素(Anthocyan)检测试剂盒	100T	4℃	1份	1年
AnthocyanAssayBuffer	2×500ml	RT		

### 自备材料：

- 1、实验材料：桃子、李子、苹果、杏等果实或其他植物组织
- 2、研钵或匀浆器
- 3、离心管、离心机
- 4、滤纸或纱布
- 5、96孔板
- 6、酶标仪

### 操作步骤(仅供参考)：

- 1、花青素提取：

方法一：

- ①4℃预冷研钵或匀浆器，以及 AnthocyanAssayBuffer。

- ②取植物组织，洗净，擦干，称取新鲜样品 0.25g，剪碎，置于研钵或匀浆器中。
- ③加入 2~3ml AnthocyanAssayBuffer，充分研磨或匀浆后转入 10ml 离心管，用 AnthocyanAssayBuffer 冲洗研钵或匀浆器并转移至离心管，补加 AnthocyanAssayBuffer 至 8ml。
- ④4℃避光静置 20min，期间摇动 2~3 次，然后过滤至离心管，也可用离心机 8000r/min 离心 3min，滤液(上清液)即为花青素粗提液。

方法二：

将样品按上述比例加入提取液中，置于 32℃温箱浸提 4~8h(期间可摇动数次)或室温下避光浸提 24h，离心取上清即为花青素粗提液。

2、加样及测定：取 96 孔板，用 AnthocyanAssayBuffer 做空白对照，取花青素提取液(200~300ul)用酶标仪在 530nm 波长处读取吸光度值；如果花青素浓度过高，可以减少样品用量或适当稀释后再进行测定，样品的检测最好能设置 2 平行孔，求平均值。

**计算：**

花青素单位定义：以 OD 值为 0.1 时的花青素浓度称为一个单位(U)；计算方法如下：

组织样品的花青素含量(U/g)=(A 测定-A 空白)/(0.1xW)

式中：A 测定=花青素提取液在 530nm 的 OD 值

A 空白=空白对照在 530nm 的 OD 值

W=样品鲜重(g)

亦可用自备的花青素标准品做梯度稀释(0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、1mg/ml)，用 AnthocyanAssayBuffer 做空白对照，绘制标准曲线，进而计算出样品中花青素的含量。

组织样品的花青素(mg/g)={C×VT}/(W×V1)

式中：C=根据标准曲线求得的测定管花青素含量(mg/ml)

VT=花青素粗提液总体积(ml)=8

V1=加样时所用花青素粗提液的体积(ml)

W=样品鲜重(g)

液体样品的花青素(mg/ml)=C×N/V

式中：C=根据标准曲线求得的测定管花青素含量(mg/ml)

V=加样时所用花青素粗提液的体积(ml)

N=稀释倍数

**注意事项：**

- 1、为了避免花青素见光发生变化，操作时应尽量避光，研磨或匀浆应尽量缩短时间。
- 2、取样量、试剂用量应根据花青素含量适当调整。
- 3、AnthocyanAssayBuffer 应密闭保存，避免有效成分挥发。
- 4、如果没有酶标仪，也可以使用分光光度计测定。
- 5、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。