

植物类黄酮含量检测试剂盒说明书

微量法

货号：AC10290

规格：100T/48S

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，有疑问请及时联系本公司工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体 60 mL×1 瓶（自备）	常温保存
试剂一	液体 2 mL×1 瓶	2-8°C保存
试剂二	液体 2 mL×1 瓶	2-8°C保存
试剂三	液体 15 mL×1 瓶	2-8°C保存
标准品	粉剂×1 支	2-8°C保存
标准品稀释液	液体 15 mL×1 瓶	2-8°C保存

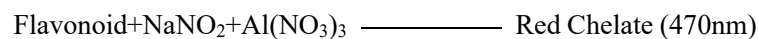
溶液的配制：

- 1、提取液：自备 60%乙醇，常温保存；
- 2、标准品：10 mg 芦丁。临用前加入 1 mL 标准品稀释液配制成 10 mg/mL 标准液备用，2-8°C保存四周。

产品说明：

类黄酮是一类多苯化合物，属于植物次生代谢物，对人体具有消炎，抗菌，降血脂，清除体内羟自由基，预防癌症等作用。

在碱性亚硝酸盐溶液中，类黄酮与铝离子形成在470nm处有特征吸收峰的红色络合物，测定样本提取液在470nm处的吸光值，即可计算样本类黄酮含量。



技术指标：

最低检出限：0.00818 mg/mL

线性范围：0.0097-5 mg/mL

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。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿/96孔板、天平、烘箱、粉碎仪、30-50目筛、超声清洗仪、60%乙醇、台式离心机、研钵、蒸馏水、水浴锅/恒温培养箱。

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）

将样本烘干至恒重，粉碎，过 30-50 目筛之后，称取约 0.1g，加入 1mL 提取液，用超声提取法进行提取，超声功率 300W，温度 60°C，提取 30min。12000rpm，25°C，离心 10min，取上清，用提取液定容至 1mL，待测。

二、测定步骤

- 分光光度计或酶标仪预热30min以上，调节波长至470nm，分光光度计用蒸馏水调零。
- 标准溶液的制备：将10mg/mL芦丁标准溶液用**标准品稀释液**稀释至2.5、1.25、0.625、0.3125、0.15625、0.078、0.039mg/mL备用，具体稀释可参考下表。

序号	稀释前浓度 (mg/mL)	标准液体积 (μL)	标准品稀释液体积 (μL)	稀释后浓度 (mg/mL)
1	10	250	750	2.5
2	2.5	200	200	1.25
3	1.25	200	200	0.625
4	0.625	200	200	0.3125
5	0.3125	200	200	0.15625
6	0.15625	200	200	0.078
7	0.078	200	200	0.039
8	0.039	200	200	0.02

备注：实验中每个标准管需 60μL 标准溶液。

3. 操作表

试剂名称	对照管	测定管	标准管	空白管
样本待测液 (μL)	60	60	-	-
标准溶液 (μL)	-	-	60	-
蒸馏水 (μL)	-	-	-	60
试剂一 (μL)	15	15	15	15
涡旋混匀，常温静置5min				
试剂二 (μL)	-	15	15	15
涡旋混匀，常温静置5min				
试剂三 (μL)	120	120	120	120
60%乙醇 (μL)	105	90	90	90
涡旋混匀，置于 37°C水浴锅/恒温培养箱中准确反应 45 min，10000g，室温离心 10min，取上清 200μL 于微量玻璃比色皿/96 孔板中，测定 A470。计算 ΔA 测定=A 测定-A 对照，ΔA 标准=A 标准-A 空白。每个测定管需设一个对照管，标准曲线和空白管只需测 1-2 次。				

三、类黄酮含量计算

- 根据标准管的浓度 (x, mg/mL) 和吸光度ΔA标准 (y, ΔA标准)，建立标准曲线。根据标准曲线，将ΔA测定 (y, ΔA测定) 带入公式计算样本浓度 (x, mg/mL)。

- 按样本质量计算

$$\text{类黄酮含量 (mg/g 质量)} = x \times V_{\text{提取}} \div W = x \div W$$

- 按样本蛋白浓度计算

$$\text{类黄酮含量 (mg/mg prot)} = x \times V_{\text{提取}} \div (\text{Cpr} \times V_{\text{提取}}) = x \div \text{Cpr}$$

V提取：加入提取液体积，1mL；W：样本质量，g；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL。

注意事项：

- 如果测定吸光值超过线性范围吸光值，可以增加样本量或者稀释样本后再进行测定。注意同步修改计算公式。
- 显色完成后立即测定，2小时后吸光值会下降。

实验实例:

- 1、取 0.1g 处理的葡萄皮加入 1mL 提取液后超声破碎，取上清按照测定步骤操作，使用 96 孔板测得计算 ΔA 测定= A 测定- A 对照= $0.365-0.116=0.249$ ，带入标曲 $y=0.3144x+0.0009$ ，得出 $x=0.789$ ，按样本质量计算含量得：
类黄酮含量 (mg/g 质量) = $x \div W = 0.789 \div 0.1 = 7.89 \text{mg/g 质量}$ 。

相关系列产品:

- AC10283/AC10284 铜蓝蛋白 (Cp) 活性检测试剂盒
- AC10285/AC10286 总抗氧化能力 (T-AOC) 检测试剂盒
- AC10297/AC10298 总巯基含量检测试剂盒