

植物类黄酮含量检测试剂盒说明书

可见分光光度法

规格：50T/24S

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，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体 50 mL×1 瓶（自备）	常温保存
试剂一	液体 5 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	液体 4 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂三	液体 30 mL×1 瓶	2-8℃保存
标准品	粉剂×1 支	2-8℃保存
标准品稀释液	液体 20 mL×1 瓶	2-8℃保存

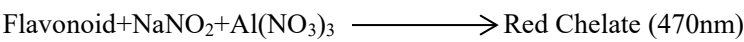
溶液的配制：

- 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℃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：0.00666 mg/mL

线性范围：0.0097-1.75 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、1mL玻璃比色皿、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℃，提取 30min。12000rpm，25℃，离心 10min，取上清，用提取液定容至 1mL，待测。

二、测定步骤

- 1. 可见分光光度计预热30min以上，调节波长至470nm，蒸馏水调零。
- 2. 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1.5、1.25、0.625、0.3125、0.15625、0.078、0.039、0.02mg/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	150	850	1.5
2	10	125	875	1.25
3	1.25	500	500	0.625
4	0.625	500	500	0.3125
5	0.3125	500	500	0.15625
6	0.15625	500	500	0.078
7	0.078	500	500	0.039
8	0.039	500	500	0.02

备注：实验中每个标准管需 200μL 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（mL）	0.2	0.2	-	-
标准溶液（mL）	-	-	0.2	-
蒸馏水（mL）	-	-	-	0.2
试剂一（mL）	0.05	0.05	0.05	0.05
涡旋混匀，室温静置5min				
试剂二（mL）	-	0.05	0.05	0.05
涡旋混匀，室温静置5min				
试剂三（mL）	0.4	0.4	0.4	0.4
60%乙醇（mL）	0.35	0.3	0.3	0.3
涡旋混匀，置于 37℃水浴锅/恒温培养箱中准确反应 45 min，10000g，室温离心 10min，取上清于 1mL 玻璃比色皿中，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

- 1. 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）。
- 2. 按样本质量计算
类黄酮含量（mg/g 质量）=x×V提取÷W=x÷W。

3. 按样本蛋白浓度计算

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

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:

1. 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。
2. 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, 测得计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}} = 0.675 - 0.325 = 0.350$, 带入标曲 $y = 0.6197x - 0.0059$, 得出 $x = 0.5743$, 按样本质量计算含量得:
类黄酮含量 (mg/g 质量) = $x \div W = 0.5743 \div 0.1 = 5.743 \text{ mg/g 质量}$ 。

相关系列产品:

- BC1300/BC1305 铜蓝蛋白 (Cp) 活性检测试剂盒
- BC1310/BC1315 总抗氧化能力 (T-AOC) 检测试剂盒
- BC1370/BC1375 总巯基含量检测试剂盒