

植物类黄酮含量测定试剂盒说明书

| 产品货号 | 产品名称 | 包装规格 | 测定方法 |
|-----------|--------------|------|------|
| PYFA1-C24 | 植物类黄酮含量测定试剂盒 | 24T | 常量法 |
| PYFA1-C48 | | 48T | |

一、测定意义

类黄酮是植物重要的一类次生代谢产物，它以结合态(黄酮苷)或自由态(黄酮苷元)形式存在于水果、蔬菜、豆类和茶叶等许多食源性植物中。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。

二、测定原理

在碱性亚硝酸盐溶液中，类黄酮与铝离子形成在 510nm 处有特征吸收峰的红色络合物，测定样本提取液在 510nm 处的吸光值，即可计算样本类黄酮含量。

三、试剂组成

| 试剂名称 | 试剂装量 (24T) | 试剂装量 (48T) | 保存条件 |
|--|------------------|------------------|--------|
| 提取液 | 液体 30mL×1 瓶 (自备) | 液体 60mL×1 瓶 (自备) | 常温 |
| 提取液配制: 取 60mL 无水乙醇加水定容至 100mL，即为 60%乙醇溶液 | | | |
| 试剂一 | 液体 3mL×1 瓶 | 液体 6mL×1 瓶 | 2-8℃保存 |
| 试剂二 | 液体 2mL×1 瓶 | 液体 4mL×1 瓶 | 2-8℃保存 |
| 试剂三 | 液体 25mL×1 瓶 | 液体 50mL×1 瓶 | 2-8℃保存 |
| 标准品 | 粉剂 10mg×2 支 | 粉剂 10mg×2 支 | 2-8℃保存 |
| 标准品溶液(1mg/mL)配制: 取一支标准品粉剂 (10mg) 加入 10mL 60%乙醇溶液，充分混匀,使其完全溶解。 | | | |

四、操作步骤

1、样本前处理

取待测样品，研粉碎，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 40℃，提取 30min。12000rpm，离心 10min，取上清液待测。

2、操作步骤

- 1、分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 510nm，用蒸馏水调零。
- 2、试剂回复至常温；
- 3、用 60%乙醇溶液将标准品溶液 (1mg/mL) 依次稀释至 0、0.03125、0.0625、0.125、0.25、0.5、1mg/mL，作为标准品备用

4、操作表:

| 试剂名称 | 对照管 | 测定管 | 标准管 | 空白管 |
|---|------|------|------|------|
| 样本待测 (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) | 0.3 | 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 25 min, 10000g, 室温离心 10min, 取上清 200μL 于 96 孔板或者微量比色皿中, 测定 A510, 计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$, $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。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。 | | | | |

五、植物样本中类黄酮含量计算

根据标准管的浓度 (x, mg/mL) 和吸光度 $\Delta A_{\text{标准}}$ (y, $\Delta A_{\text{标准}}$), 建立标准曲线。根据标准曲线, 将 $\Delta A_{\text{测定}}$ (y, $\Delta A_{\text{测定}}$) 带入公式计算样本浓度 (x, mg/mL)。

1. 按样本质量计算

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

2. 按样本蛋白浓度计算

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

V_{提取}: 加入提取液体积, 1mL;

W: 样本质量, g;

C_{pr}: 样本蛋白质浓度, mg/mL。

六、注意事项

- 1) 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。
- 2) 溶液显色稳定, 2 小时内比色均可。

七、公司介绍

陌凡生物科技有限公司是一家专业从事转基因检测、食品安全以及动植物疫病检测为核心业务的生物科技公司。能够为客户提供动植物疫病检测试剂、小分子抗原抗体、植物激素、植物抗体、重组蛋白等优质产品。自主研发了涵盖分子生物学、细胞生物学、免疫学、生物医学等领域的各种试剂盒。产品覆盖面广, 品质可靠。

附录 I 类黄酮标准曲线制备

- 1、取一支标准品粉剂（10mg）加入 10mL 60%乙醇溶液，充分混匀溶解，再依次稀释至 0、0.03125、0.0625、0.125、0.25、0.5、1mg/mL，按照操作表操作。
- 2、测定结果如下：

| 标准品浓度 (mg/mL) | Abs | $\Delta A_{\text{标准}}$ |
|---------------|--------|------------------------|
| 0.000 | 0.0036 | 0.0000 |
| 0.031 | 0.0558 | 0.0522 |
| 0.063 | 0.1031 | 0.0995 |
| 0.125 | 0.1996 | 0.1960 |
| 0.250 | 0.4136 | 0.4100 |
| 0.500 | 0.7629 | 0.7593 |
| 1.000 | 1.6124 | 1.6088 |

以标准管的浓度 (x, mg/mL) 为横坐标，吸光度 $\Delta A_{\text{标准}}$ (y, $\Delta_{\text{标准}}$) 为纵坐标，建立标准曲线。

