

## 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-M48	植物类黄酮含量测定试剂盒	48T	微量法
PYFA1-M96		96T	

### 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 (48T)	试剂装量 (96T)	保存条件
提取液	液体 60mL (自备)	液体 110mL (自备)	常温
<b>提取液配制：</b> 取 60mL 无水乙醇加水定容至 100mL，即为 60%乙醇溶液			
试剂一	液体 4mL×1 瓶	液体 8mL×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
<b>标准品溶液(1mg/mL)配制：</b> 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/酶标仪预热 30min 以上，调节波长到 510nm。
- 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，备用；

#### 4、操作表:

试剂名称	对照管	测定管	标准管	空白管
样本 (mL)	0.1	0.1	-	-
标准溶液 (mL)	-	-	0.1	-
蒸馏水 (mL)	-	-	-	0.1
试剂一 (mL)	0.025	0.025	0.025	0.025
涡旋混匀, 室温静置 5min				
试剂二 (mL)	-	0.025	0.025	0.025
涡旋混匀, 室温静置 5min				
试剂三 (mL)	0.2	0.2	0.2	0.2
60%乙醇 (mL)	0.15	0.15	0.15	0.15
涡旋混匀, 置于 37°C 水浴锅/恒温培养箱中准确反应 25 min, 10000g, 室温离心 10min, 取上清于 1mL 玻璃比色皿中, 测定 A <sub>510</sub> , 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

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

**V<sub>提取</sub>**: 加入提取液体积, 1mL;

**W**: 样本质量, g;

**Cpr**: 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。