

植物类黄酮含量检测试剂盒说明书

Plant Flavonoids Assay Kit

分光光度法

货号：AK344

规格：50T/24S

产品组成及保存条件：

编号	规格	储存条件
提取液	60%乙醇	常温保存（自备）；
AK344-A	液体 5mL×1 瓶	4℃保存；
AK344-B	液体 4mL×1 瓶	4℃保存；
AK344-C	液体 30mL×1 瓶	4℃保存；
AK344-标准品	粉剂×1 支	4℃保存；
AK344-标准品稀释液	液体 1mL×1 支	4℃保存。

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

简介：

意义：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。

原理：在碱性亚硝酸盐溶液中，类黄酮与铝离子形成在 502nm 处有特征吸收峰的红色络合物，测定样品提取液在 502nm 处的吸光值，即可计算样品类黄酮含量。

自备用品：

分光光度计、1ml 玻璃比色皿、水浴锅、可调式移液枪、研钵、冰和双蒸水、天平、烘箱、粉碎仪、筛子、超声破碎仪、60%乙醇、离心机。

类黄酮样品提取：

将样本烘干至恒重，粉碎，过 40 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，破碎 5s，间歇 8s，60℃，提取 30min。10000g，25℃，离心 10min，取上清，用提取液定容至 1mL，待测。

测定步骤：

1. 分光光度计预热 30min，调节波长至 502nm，蒸馏水调零。
2. 标准溶液的制备：临用前加入 1 mL 标准品稀释液配制成 10 mg/mL 标准液，再将其用 60%乙醇稀释至 1.25、0.625、0.3125、0.15625、0.078、0.039、0mg/mL 备用。
3. 按列表中顺序加入上述试剂：

试剂名称	对照管 (ul)	测定管 (ul)	标准管(ul)	空白管(ul)
样本待测液	200	200		
标准溶液			200	
蒸馏水				200
AK344-A	50	50	50	50
混匀，室温静置 5min				
AK344-B		50	50	50
混匀，室温静置 5min				
AK344-C	400	400	400	400
60%乙醇	350	300	300	300

混匀，室温静置 15 min，测定 A502；计算 $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ， $\Delta A' = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。

类黄酮含量计算公式：

1. 标准曲线绘制：以标准品浓度为横坐标， $\Delta A'$ 为纵坐标绘制标准曲线 $y=kx+b$ ，将 ΔA 带入方程求得 x (mg/mL)；
2. 按样本质量计算：
类黄酮含量 (mg/g 质量) = $x \times V_{\text{提取}} \div W = x \div W$
3. 按样本蛋白浓度计算：
类黄酮含量 (mg/mg prot) = $x \times V_{\text{提取}} \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{提取}}) = x \div C_{\text{pr}}$
 $V_{\text{提取}}$ ：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。

注意事项：

1. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴乳胶手套操作。
2. 显色完成后立即测定，2 小时后吸光值会下降。
3. 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。