

## 植物类黄酮含量检测试剂盒说明书

### Plant Flavonoids Assay Kit

微量法

货号: AK345

规格: 100T/48S

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); |
| AK345-A      | 液体 2mL×1 瓶  | 4℃保存;      |
| AK345-B      | 液体 2mL×1 瓶  | 4℃保存;      |
| AK345-C      | 液体 15mL×1 瓶 | 4℃保存;      |
| AK345-标准品    | 粉剂×1 支      | 4℃保存;      |
| AK345-标准品缓冲液 | 液体 1mL×1 瓶  | 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/酶标仪、微量玻璃比色皿/96 孔板、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 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, 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. 分光光度计或酶标仪预热 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 标准品缓冲液配制成 10 mg/mL 标准液, 再将其用 60%乙醇稀释至 1、0.75、0.5、0.25、0.125、0.0625、0 mg/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         | 60       | 60       |         |         |
| 标准溶液          |          |          | 60      |         |
| 蒸馏水           |          |          |         | 60      |
| AK345-A       | 15       | 15       | 15      | 15      |
| 混匀, 室温静置 5min |          |          |         |         |
| AK345-B       |          | 15       | 15      | 15      |
| 混匀, 室温静置 5min |          |          |         |         |
| AK345-C       | 120      | 120      | 120     | 120     |
| 60%乙醇         | 105      | 90       | 90      | 90      |

混匀，室温静置 15 min，吸取 200ul 于微量比色皿或 96 孔板中测定 A502；计算  $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ， $\Delta A' = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。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。

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  $\Delta A$  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； $C_{\text{pr}}$ ：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。