

类黄酮 (Flavonoids) 含量检测试剂盒

(货号: SH3019 酶标法 96T)

一、产品简介

类黄酮 (Flavonoids) 是一类多苯化合物, 属于植物次生代谢物, 广泛存在于水果、蔬菜、豆类和茶叶等食源性植物中, 以结合态 (黄酮苷) 或自由态 (黄酮苷元) 形式存在。类黄酮对人体具有消炎、抗菌、降血脂、清除羟自由基、预防癌症等作用。

二、检测原理

本试剂盒采用亚硝酸钠-硝酸铝比色法: 在碱性亚硝酸盐溶液中, 类黄酮与铝离子形成在 510 nm 处有特征吸收峰的红色络合物, 在特定浓度范围内, 吸光度值与类黄酮含量成正比。通过测定 510 nm 处吸光度值, 与标准曲线比较, 即可计算样品中类黄酮的含量。

三、试剂盒组分与规格

试剂名称	规格	保存条件	备注
提取液	液体 100mL×1 瓶	4℃ 保存	60%乙醇
试剂一	液体 1mL×1 瓶	4℃ 避光保存	
试剂二	液体 1mL×1 瓶	4℃ 保存	
试剂三	液体 10mL×1 瓶	4℃ 保存	
标准品	液体×1 支	4℃ 避光保存	若需要做标曲, 则用到该试剂

四、保存条件: 4℃ 保存, 6 个月有效。

五、所用到的仪器和用品

酶标仪、台式低温离心机、恒温水浴锅、可调式移液器、96 孔板、匀浆器、60%乙醇。

六、类黄酮含量测定

正式实验前务必选取 2-3 个预期差异较大的样本做测定, 了解本批样本情况, 熟悉实验流程, 避免实验样本和试剂浪费!

1、样本制备:

①新鲜组织样本: 称取约 0.1g 组织 (水分充足样本可取 0.5g), 加入 1mL 提取液, 进行冰浴匀浆, 转移至 EP 管后, 在 4℃ 避光静置 20min, 期间混匀 3 次, 使类黄酮充分溶出; 在 4℃ 12000g 离心 10min, 取上清待测。

【注】若增加样本量, 可以按照组织质量 (g): 提取液体积 (mL) 为 1: 5~10 的比例进行提取。

②植物干组织/果实样本: 将样本烘干至恒重, 粉碎后过 40 目筛, 称取约 0.1g, 加入 1mL 提取液, 60℃ 振荡提取 2h; 冷却至室温后, 在 25℃ 12000g 离心 10min, 取上清待测。

2、上机检测

①酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 510nm。

②在 96 孔板中依次加入:

试剂名称 (μL)	测定管	空白管 (仅做一次)
样本	100	
蒸馏水		100
试剂一	10	10
混匀, 25℃静置 6min		
试剂二	10	10
混匀, 25℃静置 6min		
试剂三	80	80
混匀, 25℃静置 15min, 于 510nm 处测吸光值, $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}$		

七、结果计算

- 根据标准曲线, 计算 ΔA 对应的标准品芦丁浓度 C (单位为 $\mu\text{g/mL}$)。例如本说明书中的标准曲线为 $y = 0.0033x + 0.006$, 则 $C = (\Delta A - 0.006) / 0.0033$ 。

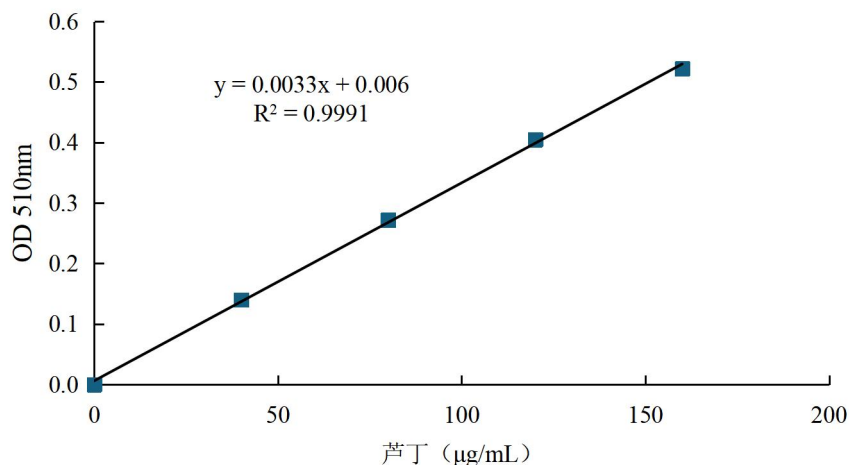


图 1 类黄酮检测试剂盒的标准曲线效果图, 图中数据仅供参考。

- 按照样本重量计算:

$$\text{类黄酮含量} (\mu\text{g/g}) = C \times V1 \div (W \times V1 \div V) \times D$$

V---加入提取液体积, 1mL;

V1---加入样本体积, 0.1mL;

D---稀释倍数, 未稀释即为 1;

W---样本质量, g;

注意事项: 上清液不能用于蛋白质浓度测定。

八、标准曲线制作

- 标准品母液浓度为 1mg/mL。
- 把母液用 60%乙醇稀释成以下浓度梯度的标准品: 0, 20, 40, 60, 80, 100 $\mu\text{g/mL}$ 。也可以根据实际样本来调整校准品浓度。
- 依据测定管的加样体系操作, 根据结果即可制作标准曲线。