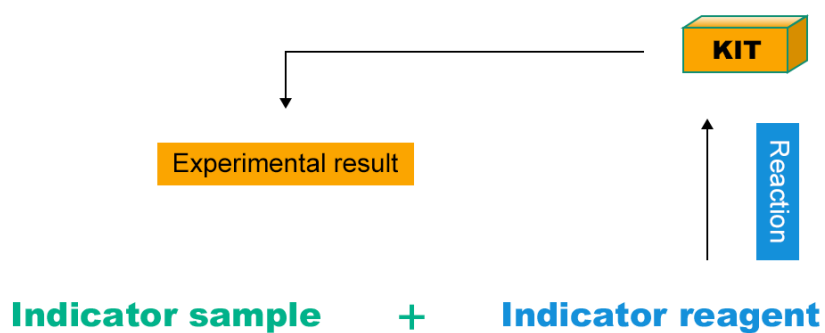


上海茁彩生物科技有限公司  
ZCIBIO Technology Co., Ltd



生化检测原理示意图

Cat. NO: ZC-S0629

Size: 50T/24S

## 植物类黄酮检测试剂盒说明书

### 可见分光光度法

\*正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

#### 一、测定意义:

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。

#### 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 470nm 处有特征吸收峰的红色络合物,测定样品提取液在 470nm 处的吸光值,即可计算样品类黄酮含量。

#### 三、需自备的仪器和用品:

天平、烘箱、粉碎仪、筛子、超声破碎仪、60%乙醇、离心机、可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿、蒸馏水。

#### 四、试剂的组成和配置:

| 种类  | 试剂规格        | 储存条件 | 使用方法及注意事项       |
|-----|-------------|------|-----------------|
| 提取液 | 60%乙醇, 自备   | 常温保存 |                 |
| 试剂一 | 液体 5mL×1 瓶  | 4℃保存 |                 |
| 试剂二 | 液体 4mL×1 瓶  | 4℃保存 |                 |
| 试剂三 | 液体 30mL×1 瓶 | 4℃保存 |                 |
| 标准品 | 液体 1mL×1 支  | 4℃保存 | 10mg/mL 单宁酸标准溶液 |

## 五、操作步骤：

### ● 类黄酮提取

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。12000rpm，25℃，离心 10min，取上清，用提取液定容至 1mL，待测。

### ● 标准溶液准备

将10mg/mL 单宁酸标准溶液进行二倍稀释至 1.25、0.625、0.3125、0.156、0.078、0.039、0.02、0.01、0.005mg/mL 备用。

### ● 测定操作表

1、可见分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 470nm，蒸馏水调零。

2、操作表

|                                                                                                                                                                      | 对照管  | 测定管  | 标准管  | 空白管  |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|------|------|------|
| 样本待测液 (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 |
| 混匀，室温静置 5min                                                                                                                                                         |      |      |      |      |
| 试剂二 (mL)                                                                                                                                                             |      | 0.05 | 0.05 | 0.05 |
| 混匀，室温静置 5min                                                                                                                                                         |      |      |      |      |
| 试剂三 (mL)                                                                                                                                                             | 0.4  | 0.4  | 0.4  | 0.4  |
| 60%乙醇 (mL)                                                                                                                                                           | 0.35 | 0.3  | 0.3  | 0.3  |
| 混匀，37℃水浴 45 min，10000g，10min 离心取上清，对照管调零，1mL 玻璃比色皿测定 A <sub>470</sub> ，计算 $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ， $\Delta A' = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。 |      |      |      |      |

## 六、类黄酮含量计算

### 1、标准曲线绘制

以单宁酸浓度为横坐标， $\Delta A'$  为纵坐标绘制标准曲线  $y=kx+b$ ，将  $\Delta A$  带入方程求得  $x$ ；

### 2、按样本鲜重计算

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

### 3、按样本蛋白浓度计算

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

$V_{\text{提取}}$ ：加入提取液体积；1mL； $W$ ：样本鲜重，g； $C_{\text{pr}}$ ：样本蛋白质浓度，mg/mL。

## 七、注意事项：

1、OD 值大于 0.5，样品适当稀释再测定，注意计算公式里乘以稀释倍数。

2、显色完成后立即测定，2 小时后吸光值会下降。