

植物类黄酮含量检测试剂盒说明书

可见分光光度法

货号: BC1330

规格: 50T/24S

产品组成: 使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致, 有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
提取液	自备试剂	-
试剂一	液体 5 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	液体 4 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂三	液体 30 mL×1 瓶	2-8℃保存
标准品	粉剂×1 支	2-8℃保存
标准品稀释液	液体 20 mL×1 瓶	2-8℃保存

溶液的配制:

- 1、提取液: 自备 60%乙醇, 大约需要 50mL (30mL 乙醇+20mL 蒸馏水), 常温保存; 试剂盒内提供一个 30mL 棕色空瓶, 仅做分装使用, 请自行标注试剂名称。
- 2、标准品: 10 mg 芦丁。临用前加入 1 mL 标准品稀释液配制成 10 mg/mL 标准液备用, 2-8℃保存 4 周。

产品说明:

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。

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, 测定样本提取液在470nm处的吸光值, 即可计算样本类黄酮含量。

**技术指标:**

最低检出限: 0.00666 mg/mL

线性范围: 0.0097-1.75 mg/mL

注意: 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。

需自备的仪器和用品:

可见分光光度计、1mL玻璃比色皿、天平、烘箱、粉碎仪、30-50目筛、超声清洗仪、60%乙醇、台式离心机、研钵、蒸馏水、水浴锅/恒温培养箱。

操作步骤:**一、样本处理** (可适当调整待测样本量, 具体比例可以参考文献)

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, 温度 60℃, 提取 30min。12000rpm, 25℃, 离心 10min, 取上清待测。





二、测定步骤

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. 标准溶液的制备：将10mg/mL芦丁标准溶液用标准品稀释液稀释至1.5、1.25、0.625、0.3125、0.15625、0.078、0.039、0.02mg/mL备用，具体稀释可参考下表。

序号	稀释前浓度 (mg/mL)	标准液体积 (μL)	标准品稀释液体积 (μL)	稀释后浓度 (mg/mL)
1	10	150	850	1.5
2	10	125	875	1.25
3	1.25	500	500	0.625
4	0.625	500	500	0.3125
5	0.3125	500	500	0.15625
6	0.15625	500	500	0.078
7	0.078	500	500	0.039
8	0.039	500	500	0.02

备注：下述实验中每个标准管需 200μL 标准溶液（注意不要在此步骤直接检测标准溶液吸光度）。

3. 操作表

试剂名称	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
涡旋混匀，室温静置5min				
试剂二 (mL)	-	0.05	0.05	0.05
涡旋混匀，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
涡旋混匀，置于 37°C 水浴锅/恒温培养箱中准确反应 45 min，10000g，室温离心 10min，取上清于 1mL 玻璃比色皿中，测定 A ₄₇₀ ，计算 ΔA 测定 = A 测定 - A 对照，ΔA 标准 = A 标准 - A 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。				

三、类黄酮含量计算

1. 根据标准管的浓度 (x, mg/mL) 和吸光度 ΔA 标准 (y, ΔA 标准)，建立标准曲线。根据标准曲线，将 ΔA 测定 (y, ΔA 测定) 带入公式计算样本浓度 (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_{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. 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。注意同步修改计算公式。
2. 显色完成后立即测定, 2小时后吸光值会下降。

实验实例:

- 1、取 0.1g 处理的葡萄皮加入 1mL 提取液后超声破碎, 取上清按照测定步骤操作, 测得计算 ΔA 测定=A 测定-A 对照=0.675-0.325=0.350, 带入标曲 $y=0.6197x-0.0059$, 得出 $x=0.5743$, 按样本质量计算含量得:
类黄酮含量 (mg/g 质量) = $x \div W = 0.5743 \div 0.1 = 5.743$ mg/g 质量。

相关发表文献:

- [1] Gong Z, Duan Y, Liu D, Zong Y, Zhang D, Shi X, Hao X, Li P. Physiological and transcriptome analysis of response of soybean (*Glycine max*) to cadmium stress under elevated CO₂ concentration. *J Hazard Mater*. 2023 Apr 15;448:130950. doi: 10.1016/j.jhazmat.2023.130950. Epub 2023 Feb 10. PMID: 36860078.
- [2] Zeeshan M, Hu YX, Guo XH, Sun CY, Salam A, Ahmad S, Muhammad I, Nasar J, Jahan MS, Fahad S, Zhou XB. Physiological and transcriptomic study reveal SeNPs-mediated AsIII stress detoxification mechanisms involved modulation of antioxidants, metal transporters, and transcription factors in *Glycine max* L. (Merr.) roots. *Environ Pollut*. 2023 Jan 15;317:120637. doi: 10.1016/j.envpol.2022.120637. Epub 2022 Nov 16. PMID: 36400144.
- [3] Li X, Cao L, Jiao B, Yang H, Ma C, Liang Y. The bHLH transcription factor AcB2 regulates anthocyanin biosynthesis in onion (*Allium cepa* L.). *Hortic Res*. 2022 Jun 2;9:uhac128. doi: 10.1093/hr/uhac128. PMID: 36042846; PMCID: PMC9418810.
- [4] Wang Y, Zhang Y, Yuan Y, Zhao Y, Nie J, Nan T, Huang L, Yang J. Nutrient content prediction and geographical origin identification of red raspberry fruits by combining hyperspectral imaging with chemometrics. *Front Nutr*. 2022 Oct 17;9:980095. doi: 10.3389/fnut.2022.980095. PMID: 36386936; PMCID: PMC9642070.
- [5] Lu X, Chen G, Ma L, Zhang C, Yan H, Bao J, Nai G, Wang W, Chen B, Ma S, Li S. Integrated transcriptome and metabolome analysis reveals antioxidant machinery in grapevine exposed to salt and alkali stress. *Physiol Plant*. 2023 May-Jun;175(3):e13950. doi: 10.1111/ppl.13950. PMID: 37291799.

参考文献:

- [1] Nabavi S, Ebrahimzadeh M, Nabavi S. Determination of antioxidant activity, phenol and flavonoid content of *Parrotia persica* Mey [J]. *Pharmacologyonline*, 2008, 2: 560-567.

相关系列产品:

- BC1300/BC1305 铜蓝蛋白 (Cp) 活性检测试剂盒
- BC1310/BC1315 总抗氧化能力 (T-AOC) 检测试剂盒
- BC1370/BC1375 总巯基含量检测试剂盒

