

植物类黄酮含量检测试剂盒说明书

微量法

货号: BC1335

规格: 100T/48S

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 2 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	液体 2 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂三	液体 15 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 15 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 60mL (36mL 乙醇+24mL 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: 0.00818 mg/mL

线性范围: 0.0097-5 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/酶标仪、微量玻璃比色皿/96孔板、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

- 分光光度计或酶标仪预热30min以上，调节波长至470nm，分光光度计用蒸馏水调零。
- 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2.5、1.25、0.625、0.3125、0.15625、0.078、0.039mg/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	250	750	2.5
2	2.5	200	200	1.25
3	1.25	200	200	0.625
4	0.625	200	200	0.3125
5	0.3125	200	200	0.15625
6	0.15625	200	200	0.078
7	0.078	200	200	0.039
8	0.039	200	200	0.02

备注：下述实验中每个标准管需 60μL 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 (μL)	60	60	-	-
标准溶液 (μL)	-	-	60	-
蒸馏水 (μL)	-	-	-	60
试剂一 (μL)	15	15	15	15
涡旋混匀，常温静置5min				
试剂二 (μL)	-	15	15	15
涡旋混匀，常温静置5min				
试剂三 (μL)	120	120	120	120
60%乙醇 (μL)	105	90	90	90
涡旋混匀，置于 37℃水浴锅/恒温培养箱中准确反应 45 min，10000g，室温离心 10min，取上清 200μL 于微量玻璃比色皿/96 孔板中，测定 A470。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

- 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)。
- 按样本质量计算

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



本产品仅供科学研究使用。请勿用于临床、诊断、食品、化妆品检测等用途。

For research use only. Do not use for clinical, diagnostic, food, cosmetic testing and other purposes.

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,使用 96 孔板测得计算 ΔA 测定=A 测定-A 对照=0.365-0.116=0.249,带入标曲 $y=0.3144x+0.0009$,得出 $x=0.789$,按样本质量计算含量得:类黄酮含量 (mg/g 质量) = $x \div W = 0.789 \div 0.1 = 7.89 \text{ mg/g 质量}$ 。

相关发表文献:

- [1] Han Q, Song H, Yang C, Zhang S, Korpelainen H, Li C. Integrated DNA methylation, transcriptome and physiological analyses reveal new insights into superiority of poplars formed by interspecific grafting. *Tree Physiol.* 2022 Jul 5;42(7):1481-1500. doi: 10.1093/treephys/tpac013. PMID: 35134240.
- [2] Yang R, Chen X, Zhang D, Wang H, Zhou W, Lin W, Qi Z. Steam-Exploded Pruning Waste as Peat Substitute: Physiochemical Properties, Phytotoxicity and Their Implications for Plant Cultivation. *Int J Environ Res Public Health.* 2022 Apr 27;19(9):5328. doi: 10.3390/ijerph19095328. PMID: 35564722; PMCID: PMC9103252.
- [3] Liao X, Rao S, Yu T, Zhu Z, Yang X, Xue H, Gou Y, Cheng S, Xu F. Selenium yeast promoted the Se accumulation, nutrient quality and antioxidant system of cabbage (*Brassica oleracea* var. capitata L.). *Plant Signal Behav.* 2021 Jun 3;16(6):1907042. doi: 10.1080/15592324.2021.1907042. Epub 2021 Apr 5. PMID: 33818289; PMCID: PMC8143226.
- [4] Hou Q, Li S, Shang C, Wen Z, Cai X, Hong Y, Qiao G. Genome-wide characterization of chalcone synthase genes in sweet cherry and functional characterization of CpCHS1 under drought stress. *Front Plant Sci.* 2022 Aug 19;13:989959. doi: 10.3389/fpls.2022.989959. PMID: 36061761; PMCID: PMC9437463.
- [5] Cai N, Nong X, Liu R, McNeill MR, Wang G, Zhang Z, Tu X. The Conserved Cysteine-Rich Secretory Protein MaCFEM85 Interacts with MsWAK16 to Activate Plant Defenses. *Int J Mol Sci.* 2023 Feb 17;24(4):4037. doi: 10.3390/ijms24044037. PMID: 36835451; PMCID: PMC9967070.

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

