

植物类黄酮 (Flavonoid) 检测试剂盒说明书

(货号: ADS-W-KY022 微板法 96 样)

有效期: 3个月

注意: 正式测定之前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定。

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。

测定原理

在碱性亚硝酸盐溶液中, 类黄酮与铝离子形成在 510nm 处有特征吸收峰的红色络合物, 测定样品提取液在 510nm 处的吸光值, 即可计算样品类黄酮含量。

自备实验用品及仪器

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/酶标仪、微量石英比色皿/96孔板、蒸馏水。

试剂组成和配制

提取液: 60%乙醇, 自备。

试剂一: 液体 4mL×1 管, 4°C保存。

试剂二: 液体 4mL×1 管, 4°C保存。

试剂三: 液体 30mL×1 瓶, 4°C保存。

类黄酮提取

组织: 称取约 0.1g 样本 (水分充足的样本可取 0.5g), 加入 2mL 提取液, 匀浆后, 60°C 振荡提取 2h, 10000g, 25°C, 离心 10min, 取上清待测。

测定操作表

- 1、分光光度计/酶标仪预热 30min, 调节波长至 510nm, 蒸馏水调零。
- 2、操作表

| | 对照管 | 测定管 |
|--|-----|-----|
| 样本待测液 (μL) | 60 | 60 |
| 试剂一 (μL) | 15 | 15 |
| 混匀, 室温静置 5min | | |
| 试剂二 (μL) | | 15 |
| 混匀, 室温静置 5min | | |
| 试剂三 (μL) | 120 | 120 |
| 60%乙醇 (μL) | 105 | 90 |
| 混匀, 室温静置 15 min, 取 200μL 于微量石英比色皿/96孔板中测定 510nm 吸光值。 $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ | | |

类黄酮含量计算公式

类黄酮含量计算公式

用微量石英比色皿测定的计算公式如下

标准曲线: $y = 6.2096x + 0.0008$, $R^2 = 0.9996$

(1) 按样本鲜重计算

$$\begin{aligned} \text{类黄酮含量 (mg/g 鲜重)} &= (\Delta A - 0.0008) \div 6.2096 \div (W \div V_{\text{样总}}) \\ &= 0.322 \times (\Delta A - 0.0008) \div W \end{aligned}$$

(2) 按样本蛋白浓度计算

$$\begin{aligned}\text{类黄酮含量 (mg/mg prot)} &= (\Delta A - 0.0008) \div 6.2096 \div \text{Cpr} \\ &= 0.161 \times (\Delta A - 0.0008) \div \text{Cpr}\end{aligned}$$

V样总: 加入提取液体积, 2mL; ; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; W: 样品质量, g;

b.用96孔板测定的计算公式如下

标准曲线: $y = 3.1048x + 0.0008$, $R^2 = 0.9996$

(1) 按样本鲜重计算

$$\begin{aligned}\text{类黄酮含量 (mg/g 鲜重)} &= (\Delta A - 0.0008) \div 3.1048 \div (W \div V\text{样总}) \\ &= 0.644 \times (\Delta A - 0.0008) \div W\end{aligned}$$

(2) 按样本蛋白浓度计算

$$\begin{aligned}\text{类黄酮含量 (mg/mg prot)} &= (\Delta A - 0.0008) \div 3.1048 \div \text{Cpr} \\ &= 0.322 \times (\Delta A - 0.0008) \div \text{Cpr}\end{aligned}$$

V样总: 加入提取液体积, Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; W: 样品质量, g;

OD值大于0.8, 样品适当稀释再测定, 注意计算公式里乘以稀释倍数。

显色完成后立即测定, 2小时后吸光值会下降。