

异黄酮含量检测试剂盒说明书

(货号：ADS-W-KY012-96 微量法96样)

一、产品简介：

大豆异黄酮是黄酮类化合物，是大豆生长中形成的一类次级代谢产物，是一种生物活性物质。由于是从植物中提取，与雌激素有相似结构，因此大豆异黄酮又称植物雌激素。大豆异黄酮的雌激素作用影响到激素分泌、代谢生物学活性、蛋白质合成、生长因子活性，是天然的癌症化学预防剂。

本实验采用 95%乙醇进行提取，利用染料木素作为标品，进行紫外 260nm进行检测吸光值，采用单波长法进行含量计算。

二、试剂盒组分与配制：

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	自备	4℃保存	95%乙醇 (95 mL 无水乙醇和 5 mL 蒸馏水充分混匀)
标准品	液体 1mL×1 支	4℃避光保存	2000mg/L 标准品母液

三、需自备的仪器和用品：

酶标仪、96 孔板（UV 板）、台式离心机、恒温水浴锅/培养箱、研钵/匀浆器、天平、可调式移液器、无水乙醇、蒸馏水。

四、操作步骤：

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定，了解本批样品情况，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费！

1、预实验样本制备

① 组织样本：称取 0.1g 样本，加入 1.5mL 提取液进行匀浆，于 4℃浸提 24 h，12000rpm，4℃离心 10min，取上清待测。【注】：若增加样本量，可按照组织质量(g)：提取液体积(mL) 为 1：5~10 的比例进行提取。

② 细菌/细胞样本：先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；取约 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液，超声波破碎细菌或细胞（冰浴，功率 200W，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次）；12000rpm 4℃离心 10min，取上清待测。【注】：若增加样本量，可按照细菌/细胞数量（10⁴）：提取液（mL）为 500~1000：1 的比例进行提取。

③ 液体样本：直接检测；若浑浊，离心后取上清检测。

2、标准溶液的配制：把 2000mg/L 标准品母液用提取液稀释成 20、15、10、5、2.5、1.25mg/L 的标准溶液备用。

编号	稀释前浓度 (mg/L)	稀释液体积 (μL)	标准液体积 (μL)	稀释后浓度 (mg/L)
Sx	2000	900	100	200
S1	200	1800	200	20
S2	200	925	75	15
S3	20	1000	1000	10
S4	10	1000	1000	5
S5	5	1000	1000	2.5

S6	2.5	1000	1000	1.25
----	-----	------	------	------

3、预实验上机操作：

- ① 酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 260nm。
- ② 操作表：

试剂名称(μL)	测定管	标准管	空白管
样本	200	-	-
标准溶液	-	200	-
提取液	-	-	200

测定 260nm 处的吸光值 A，分别记为 A 测定、A 标准、A 空白。
 计算 ΔA 测定=A 测定-A 空白， ΔA 标准=A 标准-A 空白。
 （注：空白管只需测定 1-2 次）

4、正式实验：

- ① 若预实验测定吸光值超出标准吸光值线性范围：高于最高值建议将待测样本用提取液适当稀释后再进行测定，低于最低值建议适当增加样本质量 W 后再进行测定，并将改变后的 W 和 D 代入公式计算；
- ② 确定好最适实验条件后，正式实验样本制备同预实验样本制备；
- ③ 正式实验按照预实验上机操作步骤进行（标准管和空白管预实验已做，正式实验可选做）。

五、结果计算：

1、以各个标准溶液的浓度为 x 轴，其对应的 ΔA 标准为 y 轴，绘制标准曲线，得到标准方程 $y=kx+b$ ，将 ΔA 测定带入方程得到 x (mg/L)。

2、异黄酮含量(mg/g 质量)= $x \times V \div W \times D = 0.0015 \times x \div W \times D$

V：加入提取液体积，1.5mL=0.0015L；

W：样品质量，g；

D：稀释倍数，未稀释即为 1。