

植物总黄酮含量检测试剂盒（分光光度计法）
（本试剂盒仅供科研使用）

产品包装

产品编号	产品名称	产品规格
YFX0277	植物总黄酮含量检测试剂盒	50 管/24 样

产品内容

名称	规格	储存条件
提取液	60%乙醇, 自备	
试剂一	液体 5mL ×1 瓶	4℃
试剂二	液体 4mL ×1 瓶	4℃
试剂三	液体 30mL×1 瓶	4℃
标准品	体 1mL×1 支: 10mg/mL 芦丁标准溶液。	4℃

一、产品说明

总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, 总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, 即可计算样品总黄酮含量。

二、自备材料

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。

三、样本准备:

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。

四、操作步骤

正式测定前, 必需取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

- 1、分光光度计或酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 510nm, 蒸馏水调零。
- 2、标准液的配制: 将 10mg/mL 芦丁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。
- 3、操作表:

试剂名称 (mL)	对照管 (mL)	测定管 (mL)	标准管 (mL)	空白管 (mL)
样本液	0.2	0.2		
标准液			0.2	
蒸馏水				0.2
试剂一	0.05	0.05	0.05	0.05

充分混匀, 室温静置 5min。				
试剂二		0.05	0.05	0.05
充分混匀, 室温静置 5min。				
试剂三	0.4	0.4	0.4	0.4
60%乙醇	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 A510, 计算 $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$, $\Delta A' = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。				

五、总黄酮的计算

1、绘制标准曲线:

以芦丁浓度为横坐标, $\Delta A'$ 为纵坐标绘制标准曲线 $y=kx+b$, 将 ΔA 带入方程求得 x 。

2、按照组织样本蛋白浓度计算:

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

3、按照组织样本鲜重计算

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

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

六、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。