

## 植物类黄酮含量检测试剂盒说明书

| 产品货号      | 产品名称         | 包装规格 | 测定方法 |
|-----------|--------------|------|------|
| PYFA1-M48 | 植物类黄酮含量测定试剂盒 | 48T  | 微量法  |
| PYFA1-M96 |              | 96T  |      |

### 一、测定意义：

类黄酮是植物重要的一类次生代谢产物，它以结合态(黄酮苷)或自由态(黄酮苷元)形式存在于水果、蔬菜、豆类和茶叶等许多食源性植物中。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。

### 二、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，测定样本提取液在 510nm 处的吸光值，即可计算样本类黄酮含量。

### 三、试剂组成：

| 试剂名称                                                               | 试剂装量(48T)   | 试剂装量(96T)    | 保存条件   |
|--------------------------------------------------------------------|-------------|--------------|--------|
| 提取液                                                                | 液体 70mL×1 瓶 | 液体 120mL×1 瓶 | 2-8℃保存 |
| 试剂一                                                                | 液体 4mL×1 瓶  | 液体 8mL×1 瓶   | 2-8℃保存 |
| 试剂二                                                                | 液体 2mL×1 瓶  | 液体 4mL×1 瓶   | 2-8℃保存 |
| 试剂三                                                                | 液体 25mL×1 瓶 | 液体 50mL×1 瓶  | 2-8℃保存 |
| 标准品 (10mg)                                                         | 粉剂 ×1 支     | 粉剂 ×2 支      | 2-8℃保存 |
| <b>标准液的配制：</b> 取一支标准品粉剂（10mg）加入 10mL 提取液，充分混匀,使其完全溶解得到 1mg/mL 标准液。 |             |              |        |

### 四、操作步骤：

#### 样本前处理

取一定量植物组织擦净水分及杂质，剪碎后放入研钵，加入液氮，研磨成粉状后转移出来，然后准确称重，按照组织质量（g）：提取液体积(mL)为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液），用超声提取法进行提取，超声功率 300W，温度 40℃，提取 30min，8000g，4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

### 测定步骤

- 1、酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 510nm，蒸馏水调零；
- 2、试剂回复至常温；
- 3、用提取液将标准品溶液(1mg/mL)依次稀释至 0、0.03125、0.0625、0.125、0.25、0.5、1mg/mL，作为标准液备用；
- 4、操作表（在离心管中加入以下试剂）：

| 试剂名称                                                                                                                                                                                                                                        | 测定管 | 对照管 | 标准管 | 空白管 |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|-----|-----|-----|
| 样本（μL）                                                                                                                                                                                                                                      | 100 | 100 | -   | -   |
| 蒸馏水（μL）                                                                                                                                                                                                                                     | -   | -   | -   | 100 |
| 不同浓度标准液（μL）                                                                                                                                                                                                                                 | -   | -   | 100 | -   |
| 试剂一（μL）                                                                                                                                                                                                                                     | 25  | 50  | 25  | 25  |
| 涡旋混匀，室温静置 5min                                                                                                                                                                                                                              |     |     |     |     |
| 试剂二（μL）                                                                                                                                                                                                                                     | 25  | -   | 25  | 25  |
| 涡旋混匀，室温静置 5min                                                                                                                                                                                                                              |     |     |     |     |
| 试剂三（μL）                                                                                                                                                                                                                                     | 200 | 200 | 200 | 200 |
| 60%乙醇（μL）                                                                                                                                                                                                                                   | 150 | 150 | 150 | 150 |
| 涡旋混匀，置于 37℃水浴锅/恒温培养箱中准确反应 25 min，10000g，室温离心 10min，取上清 200μL 于 96 孔板中，510nm 波长，测定各管吸光度值。计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。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。 |     |     |     |     |

### 五、植物类黄酮含量计算：

- 1、标准曲线绘制：以吸光度值  $\Delta A_{\text{标准}}$  为横坐标，标准品浓度为纵坐标，绘制标准曲线  $y = kx + b$ ，x 为吸光度值  $\Delta A_{\text{标准}}$ ，y 为标准品浓度（mg/mL）。根据标准曲线，将  $\Delta A_{\text{测定}}$  带入公式计算出样本浓度（y，mg/mL）；

#### 2、按样本质量计算：

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

#### 3、按蛋白浓度计算：

$$\text{类黄酮含量 (mg/mg prot)} = y \times V_{\text{提取}} \div (\text{Cpr} \times V_{\text{提取}}) = y \div \text{Cpr}$$

$V_{\text{提取}}$ : 加入提取液体积, 1 mL; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL;

W: 样本质量 g.

## 六、注意事项:

- 1、溶液显色稳定, 2 小时内比色均可;
- 2、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。

## 【厂家信息】

生产企业: 南京陌凡生物科技有限公司

地址: 南京市栖霞区红枫科技园 A6 栋 2 层

## 【售后微信】



## 【说明书核准及修改日期】

核准日期: 2025 年 4 月 7 日

修改日期: 2025 年 4 月 7 日