



植物类黄酮含量检测试剂盒

Plant Flavonoids Content Assay Kit

Flavonoid + NaNO_2 + $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ + $\text{NaOH} \rightarrow$ **Red Chelate**

北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



植物类黄酮含量检测试剂盒

Plant Flavonoids Content Assay Kit

一、产品描述

植物类黄酮是广泛存在于蔬菜、水果、牧草和药用植物中的次生代谢物，主要以游离态或与糖结合为苷的形式存在，属于生物活性强、毒副作用小、药用价值高的天然植物成分，在医药领域具有广阔的应用前景和开发利用价值。

类黄酮与铝离子能够在碱性亚硝酸盐溶液中形成红色络合物，产物在 510 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可定量检测植物类黄酮的含量。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 60 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂一	液体 5 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂二	液体 3 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂三	液体 30 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂四	液体 25 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂五	液体 20 mL×1 瓶	4°C避光保存	-
标准品	粉剂×1 支 (10 mg 芦丁标准品)	4°C保存	使用前加入 1 mL 试剂五充分溶解 (即为 10 mg/mL 芦丁标准液)
标准稀释液的制备（现用现配）：使用前将 10 mg/mL 芦丁标准液使用试剂五稀释至 0.4、0.3、0.2、0.1、0.05、0.025 mg/mL 即为标准稀释液。			

序号	A	1	2	3	4	5	6
稀释前浓度 (mg/mL)	10	1.0	1.0	1.0	0.2	0.1	0.05
标准液体积 (μL)	100	400	300	200	500	500	500
试剂五体积 (μL)	900	600	700	800	500	500	500
稀释后浓度 (mg/mL)	1.0	0.4	0.3	0.2	0.1	0.05	0.025

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：可见分光光度计、1 mL 玻璃比色皿（光径 10 mm、狭缝 3 mm、体积 1.05 mL）、烘箱、30-50 目筛、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱、螺纹盖离心管（推荐使用 2 mL 冻存管）、超声清洗机和蒸馏水。

1. 植物类黄酮的提取（可根据预实验结果适当调整样本量及比例）

将植物样本烘干至恒重，粉碎后过 30-50 目筛；称取 0.02 g 烘干粉碎后样本，加入 2 mL 提取液，使用超声清洗机进行超声提取：功率 300 W，温度 60℃，超声提取 30 min；12000 g 常温离心 10 min，取上清即为待测样本。注：60℃超声提取过程中注意密封以防止水分散失，建议使用螺纹盖离心管。

2. 测定步骤

①分光光度计预热 30 min 以上，调节波长至 510 nm，蒸馏水调零。

②在离心管中依次加入下列试剂：

试剂	测定管 (μL)	对照管 (μL)	标准管 (μL)	空白管 (μL)
待测样本	200	200	-	-
标准稀释液	-	-	200	-
蒸馏水	-	-	-	200
试剂一	50	50	50	50
充分混匀，室温静置 5 min				
试剂二	50	-	50	50
充分混匀，室温静置 5 min				
试剂三	400	400	400	400
试剂四	300	350	300	300
充分混匀，37℃显色 45 min，冷却至室温				

注：37℃显色 45 min 后溶液应为澄清溶液，若有沉淀产生表明样本中类黄酮含量较高，需将待测样本使用提取液适当稀释后再进行检测，计算时相应修改即可。

吸光值测定（显色后 1 h 内完成测定）：将反应液置于 1 mL 玻璃比色皿中，测定 510 nm 处吸光值，记为 A 测定、A 对照、A 标准和 A 空白；计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。注：每个样品均需设一个对照管，各浓度标准管和空白管只需测定 1-2 次。

标准曲线的建立：以 0.4、0.3、0.2、0.1、0.05、0.025 mg/mL 为横坐标 (x)，以其对应的 $\Delta A_{\text{标准}}$ 为纵坐标 (y)，绘制标准曲线，得到标准方程 $y=kx+b$ ，将 $\Delta A_{\text{测定}}$ 带入公式中得到 x (mg/mL)。

3.植物类黄酮含量计算

①按植物样本质量计算

$$\text{类黄酮含量 (mg/g)} = \frac{x \times V_{\text{提}} \times D}{W} = \frac{2 \times x \times D}{W}$$

②按植物样本蛋白浓度计算

$$\text{类黄酮含量 (mg/mg prot)} = \frac{x \times V_{\text{提}} \times D}{C_{\text{pr}} \times V_{\text{提}}} = \frac{x \times D}{C_{\text{pr}}}$$

注释：W：样本质量，g；V_提：待测样本总体积，2 mL；C_{pr}：样本蛋白浓度，mg/mL；D：待测样本稀释倍数，若未稀释则为 1。

四、注意事项

①若 A 测定或ΔA 测定超出标准吸光值线性范围：高于最高值建议将待测样本使用**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量重新提取后再进行测定，计算时相应修改；

②提取液中含有蛋白沉淀组分，样本蛋白浓度测定需使用PBS单独提取后再进行测定；

③为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.

Liaodong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

