

## 大豆异黄酮试剂盒说明书

(货号: G0171F 紫外法 24 样)

### 一、产品简介:

大豆异黄酮对人体具有多种生理功能,除自身抗氧化作用外,还可以防止心血管疾病,抗癌等多种功能,因而成为世界各国科学研究的热点之一。本实验对大豆异黄酮进行了超声波辅助提取,于最大波长 260nm 处测定,最终通过标准曲线计算得到大豆异黄酮含量。

### 二、试剂盒组分与配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 50mL×1 瓶	4°C保存	
标准品	粉体 mg×1 支	4°C保存	若重新做标曲,则用到该试剂。

### 三、所需的仪器和用品:

紫外分光光度计、在 1mL 石英比色皿(光径 1cm)、超声机、离心机、可调式移液器、研钵、乙醇。

### 四、大豆异黄酮含量测定:

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、样本制备:

- ① 称取约 0.1g 组织样本(干样可适当减少如称取 0.05g;水分充足样本可取 1g),加入 1mL 提取液进行匀浆,超声提取 10min。12000rpm,室温离心 10min;弃上清,留沉淀。
- ② 沉淀重复①步骤的操作,弃上清,留沉淀(沉淀氮吹或自然风干至无提取液即可)。
- ③ 沉淀中继续加入 1.5mL 的 70%乙醇(70 份无水乙醇+30 份蒸馏水),涡旋振荡约 5min(呈分散状)后,再超声提取 20min(间隔 5min 手动混匀几下),8000rpm,室温离心 10min,取上清液待测。

#### 2、上机检测:

- ① 酶标仪预热 30min 以上,调节波长至 260nm。
- ② 所有试剂解冻至室温(25°C)
- ③ 在 1mL 石英比色皿(光径 1cm)中依次加入:

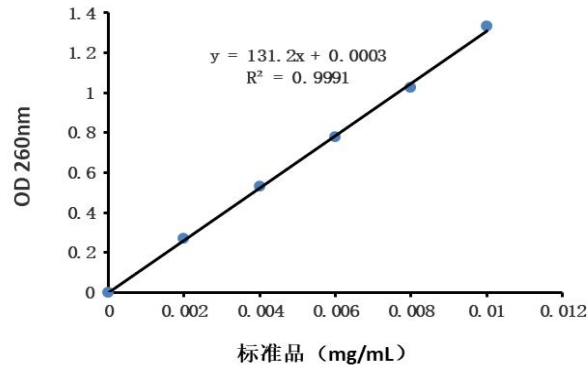
试剂名称(μL)	测定管	空白管(仅做一次)
样本	700	
提取液		700
于 260nm 处读值, $\Delta A = \text{测定} - \text{空白}$ 。		

【注】1.若  $\Delta A$  小于 0.01,可增加样本取样质量 W(如增至 0.2g);则改变后的 W 需代入计算公式重新计算。

2.若  $\Delta A$  大于 2,上清液可用 70%乙醇稀释后再检测。则稀释倍数 D 代入计算公式重新计算。

## 五、结果计算：

1、标准曲线方程为  $y = 131.2x + 0.0003$ ； $x$  为标准品浓度（mg/mL）， $y$  为  $\Delta A$ 。



2、按样本质量计算：

$$\begin{aligned} \text{大豆异黄酮含量(mg/g 重量)} &= [(\Delta A - 0.0003) \div 131.2] \times V \div W \times D \\ &= 0.008 \times (\Delta A - 0.0003) \times V \div W \times D \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{大豆异黄酮含量(\%)} &= [(\Delta A - 0.0003) \div 131.2] \times V \div W \times D \div 10 \\ &= 0.008 \times (\Delta A - 0.0003) \times V \div W \times D \div 10 \end{aligned}$$

V---加入提取液体积，1.5mL；

D---稀释倍数，未稀释即为 1；

W---样本质量，g；

附：标准曲线制作过程：

- 1 制备标准品母液（1mg/mL）：向标准管中先加 0.5mL 的 70%乙醇并转移标准品至 2mLEP 管中，再加 0.5mL 的 70%乙醇，混匀并超声溶解即 1mg/mL。
- 2 把母液用 70%乙醇稀释成六个浓度标准品：0,0.002,0.004,0.006,0.008,0.01mg/mL。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
- 3 依据测定管的加样表操作，根据结果即可制作标准曲线。