

Limonin content Kit

柠檬苦素含量测定试剂盒说明书

货号: BN72393 | 方法: 可见分光法 | 规格: 48 样

一、产品简介:

柠檬苦素是一种三萜类的植物次生代谢产物, 主要存于芸香科植物和楝科植物中。也是柑橘类水果呈现苦味的主要原因, 一般在柑橘属果实和种子中浓度较高, 具有一定的抗癌和抗病毒作用及其他有益生物活性。柠檬苦素与 Ehrlich 试剂形成稳定的红色配合物, 测定其吸光度 OD 值, 其颜色深浅与柠檬苦素浓度成正比。

二、试剂盒的组成和配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 60mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	一 A: 粉体 mg×1 支 一 B: 粉体 mg×9 支	4℃保存	一 A 试剂在临用前甩几下使粉体落入底部, 再向一 A 中加 0.5mL 水溶解备用。
			取一支一 B 试剂, 甩几下使粉体落入底部, 再加 4mL 的 35%硫酸 (溶剂是乙醇, 即硫酸: 无水乙醇=35:65) 溶解备用, 避光保存, 溶解后的一 B 尽量两天内用完 (操作过程可戴上手套谨慎操作)。
标准品	粉体 mg×1 支	4℃保存	若重新做标曲则用到该试剂。

三、所需的仪器和用品:

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿 (光径 1cm)、石油醚、无水乙醇、浓硫酸、可调式移液枪、离心机、研钵。

四、柠檬苦素含量测定:

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 组织样本: 称取 0.1g, 加入 1mL 石油醚进行研磨, 12000rpm, 25℃离心 10min, 弃上清 (尽量保留沉淀), 再加入 1mL 石油醚重复以上操作, 最后一步沉淀中加入 1mL 提取液, 涡旋震荡混匀, 45℃水浴提取 10min 后, 8000rpm, 25℃离心 10min, 取上清液待测。

【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 液体样本: 直接检测; 若浑浊, 离心后取上清检测。

2、上机检测:

- ① 分光光度计预热 30min, 调节波长到 500 nm。
- ② 试剂一 mix 配制: 向一支已经溶解成液体的一 B 中加 20μL 的一 A, 混匀后作为试剂一 mix (最好现配现用)。
- ③ 所有试剂解冻至室温 (25℃), 在 EP 管中依次加入:

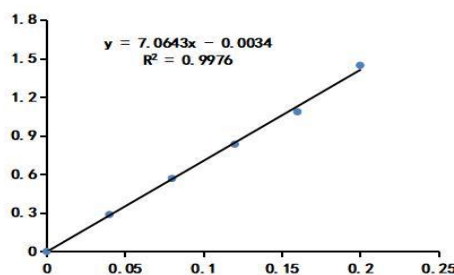
试剂名称 (μL)	测定管	空白 (仅做一次)
样本	200	
提取液		200
试剂一 mix	550	550
混匀，室温孵育 30min (若孵育期间发现分层现象，可混匀后继续孵育，检测读值前也需混匀)，将全部澄清液体转移至 1mL 玻璃比色皿 (光径 1cm) 中，于 500nm 处读值， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ 。		

注意：本操作流程适用于绝大多数常规样本检测，实验条件可根据实际样本状态适度微调；

针对特殊类型样本，我司技术支持可提供专属优化建议。

五、结果计算：

1、标准曲线方程为 $y = 7.0643x - 0.0034$ ；x 为标准品质量 (mg)，y 为 ΔA 。



标准曲线示意图

说明：标准曲线由标准品测定获得，具体制作方法详见随货说明书或咨询技术支持。

2、按照样本质量计算：

$$\text{柠檬苦素含量}(\text{mg/g 重量}) = [(\Delta A + 0.0034) \div 7.0643] \div (W \times V1 \div V) \times D$$

$$= 0.708 \times (\Delta A + 0.0034) \div W \times D$$

3、按液体体积计算：

$$\text{柠檬苦素含量}(\text{mg/mL}) = [(\Delta A + 0.0034) \div 7.0643] \div V1 \times D = 0.708 \times (\Delta A + 0.0034) \times D$$

W---样品质量，g；

V---提取液体积，1 mL；

V1---上清液体积 (mL)，0.2mL；

D---稀释倍数，未稀释即为 1；