

Limonin content Kit

柠檬苦素含量测定试剂盒说明书

货号:BN72394 | 方法:微板法 | 规格:96 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 110mL×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:

酶标仪、台式离心机、可调式移液器、UV 板、石油醚、无水乙醇、浓硫酸、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 酶标仪预热 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)。
- ② 所有试剂解冻至室温(25℃)。在 EP 管中依次加入:

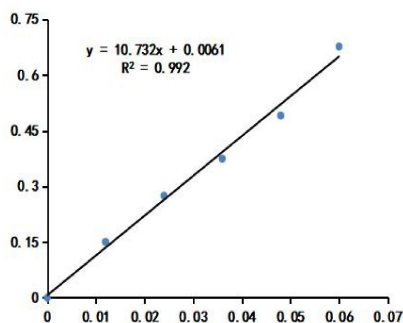
试剂名称 (μL)	测定管	空白 (仅做一次)
样本	120	
提取液		120
试剂一 mix	280	280
混匀，室温孵育 30min (若孵育期间发现分层现象，可混匀后继续孵育，检测读值前也需混匀)，取 200μL 澄清液体转移至 UV 板中，立即于 500nm 处读值， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ 。		

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 $y = 10.732x + 0.0061$ ；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：

$$\text{柠檬苦素含量 (mg/g 重量)} = [(\Delta A - 0.0061) \div 10.732] \div (W \times V1 \div V) \times D$$

$$= 1.553 \times (\Delta A - 0.0061) \div W \times D$$

3、按液体体积计算：

$$\text{柠檬苦素含量 (mg/mL)} = [(\Delta A - 0.0061) \div 10.732] \div V1 \times D = 1.553 \times (\Delta A - 0.0061) \times D$$

W---样品质量，g；

V---提取液体积，1 mL；

V1---上清液体积 (mL)，0.06mL；

D---稀释倍数，未稀释即为 1；