

植物类黄酮（Flavonoid）试剂盒说明书

微量法 100 管/96 样

注 意：正式测定之前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定。

测定意义：

类黄酮是一类多苯化合物，属于植物次生代谢物，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。

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，测定样品提取液在 510nm 处的吸光值，即可计算样品类黄酮含量。

自备实验用品及仪器：

天平、烘箱、粉碎仪、筛子、超声破碎仪、60%乙醇、离心机、可见分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96 孔板、蒸馏水。

试剂组成和配制：

提取液：60%乙醇，自备。

试剂一：液体 1mL×1 管，4℃保存。

试剂二：液体 1mL×1 管，4℃保存。

试剂三：液体 10mL×1 瓶，4℃保存。

类黄酮提取：

将样本烘干至恒重，粉碎，过 40 目筛之后，称取约 0.02g，加入 2mL 提取液，60℃振荡提取 2h，10000g，25℃，离心 10min，取上清待测。

测定操作表：

1、 分光光度计/酶标仪预热 30min，调节波长至 510nm，蒸馏水调零。

2、 操作表

	空白管	测定管
样本待测液（μL）		108
蒸馏水（μL）	108	
试剂一（μL）	6	6
混匀，25℃静置 6min		
试剂二（μL）	6	6
混匀，25℃静置 6min		
试剂三（μL）	80	80
混匀，25℃静置 15 min，测定 510nm 处吸光值。 $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ ，空白管只要做一管。		

类黄酮含量计算公式：

a. 用微量石英比色皿测定的计算公式如下

标准曲线： $y = 5.02x + 0.0007$ ， $R^2 = 0.9996$

类黄酮含量 (mg/g 干重) = $(\Delta A - 0.0007) \div 5.02 \div (W \div V \text{ 样总}) = 0.398 \times (\Delta A - 0.0007) \div W$

V 样总：加入提取液体积，2.5mL； V 样：反应中样品体积，0.108mL； W：样品质量，g

b. 用 96 孔板测定的计算公式如下

标准曲线： $y = 2.51x + 0.0007$ ， $R^2 = 0.9996$

类黄酮含量 (mg/g 干重) = $(\Delta A - 0.0007) \div 2.51 \div (W \div V \text{ 样总}) = 0.797 \times (\Delta A - 0.0007) \div W$

V 样总：加入提取液体积，2mL； V 样：反应中样品体积，0.108mL； W：样品质量，g

最低检出限为 10 μ g/g。