

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) = $(\Delta A - 0.0007) \div 5.02 \div (W \div V_{\text{样总}}) = 0.398 \times (\Delta A - 0.0007) \div W$

$V_{\text{样总}}$: 加入提取液体积, 2.5mL; $V_{\text{样}}$: 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) = $(\Delta A - 0.0007) \div 2.51 \div (W \div V_{\text{样总}}) = 0.797 \times (\Delta A - 0.0007) \div W$

$V_{\text{样总}}$: 加入提取液体积, 2mL; $V_{\text{样}}$: 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。