

植物类黄酮 (Flavonoid) 试剂盒说明书

微量法 100T/48S

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 502nm 处有特征吸收峰的红色络合物，测定样品提取液在 502nm 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 2mL×1 管，4℃保存。

试剂二：液体 2mL×1 管，4℃保存。

试剂三：液体 15mL×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 0.1g，加入 2.5mL 提取液，用超声提取法进行提取，超声功率 300W，破碎 5s，间歇 8s，60℃，提取 30min。10000g，25℃，离心 10min，取上清，用提取液定容至 2.5mL，待测。

测定操作表

- 1、分光光度计/酶标仪预热 30min，调节波长至 502nm，蒸馏水调零。
- 2、操作表

	对照管	测定管
样本待测液 (μL)	60	60
试剂一 (μL)	15	15
混匀，25℃静置 5min		
试剂二 (μL)		15
混匀，25℃静置 5min		
试剂三 (μL)	120	120
60%乙醇 (μL)	105	90
混匀，25℃静置 15 min，取 200μL 于微量石英比色皿/96 孔板中测定 502nm 处吸光值。 ΔA=A 测定-A 对照。		

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 = 6.2096x+0.0008, R² = 0.9996

$$\begin{aligned} \text{类黄酮含量 (mg/g)} &= (\Delta A - 0.0008) \div 6.2096 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \\ &= 2.013 \times (\Delta A - 0.0008) \div W \end{aligned}$$

V 样总：加入提取液体积，2.5mL；V 反总：反应总体积，0.3 mL；V 样：反应中样品体积，0.06mL；W：样品质量，g

b.用 96 孔板测定的计算公式如下

标准曲线: $y = 3.1048x + 0.0008$, $R^2 = 0.9996$

$$\begin{aligned} \text{类黄酮含量 (mg/g)} &= (\Delta A - 0.0008) \div 3.1048 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \\ &= 4.026 \times (\Delta A - 0.0008) \div W \end{aligned}$$

$V_{\text{样总}}$: 加入提取液体积, 2.5mL; $V_{\text{反总}}$: 反应总体积, 0.3 mL; $V_{\text{样}}$: 反应中样品体积, 0.06mL; W : 样品质量, g

注意事项

- 1、吸光值大于 0.8, 样品适当稀释再测定, 注意计算公式里乘以稀释倍数。
- 2、显色完成后立即测定, 2 小时后吸光值会下降。
- 3、最低检出限为 12.8 μ g/g。