

植物类黄酮（Flavonoid）试剂盒说明书

分光光度法 50 管/48 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、1mL 玻璃比色皿、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 瓶，4℃ 保存。

试剂二：液体 2mL×1 瓶，4℃ 保存。

试剂三：液体 20mL×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、蒸馏水调零。

2、依次加入下列试剂：

	空白管	测定管
样本待测液（ μL ）		540
蒸馏水（ μL ）	540	
试剂一（ μL ）	30	30
混匀，25℃ 静置 6min		
试剂二（ μL ）	30	30
混匀，25℃ 静置 5min		
试剂三（ μL ）	400	400
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

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，2mL； W：样品质量，g

最低检出限为 10 $\mu\text{g/g}$ 。