

植物类黄酮检测试剂盒说明书

(Flavonoid Kit 比色法)

一、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

二、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,测定其吸光值,即可计算样品类黄酮含量。

三、仪器设备(自备):

烘箱、粉碎仪、研钵、筛子、60%乙醇、离心机、可见分光光度计、60℃震荡恒温箱

四、试剂组成:(50T/48样)

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25mL×1瓶,4℃保存。

试剂四: 标准品粉剂 1mg×1支,使用时加入1ml 60%乙醇,于60℃恒温振荡10分钟使其完全溶解,配成1mg/ml标准应用液。

五、操作步骤:

1、类黄酮提取:

干样: 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2小时,10000g,室温离心10min,取上清,待测。

鲜样: 将植物用生理盐水清洗后,将表面水分擦干,剪碎,液氮研磨成粉状,称取约0.05g,加入2ml提取液,60℃振荡提取2小时,10000g,室温离心10min,取上清,待测。

2、操作表：

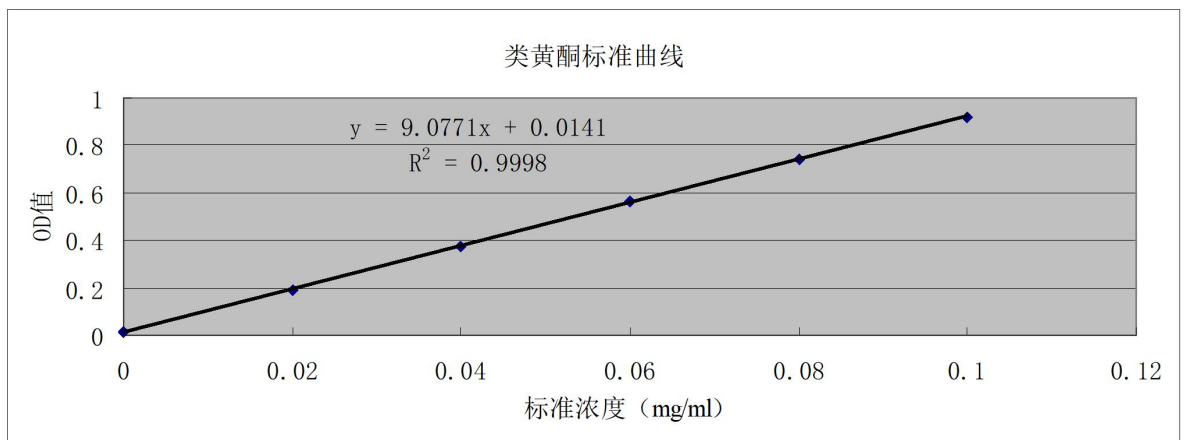
	空白管	测定管	标准管
蒸馏水 (mL)	0.50		
样本待测液 (mL)		0.50	
不同浓度标准液 (mL)			0.50
试剂一 (mL)	0.03	0.03	0.03
混匀，室温静置5min			
试剂二 (mL)	0.03	0.03	0.03
混匀，室温静置5min			
试剂三 (mL)	0.40	0.40	0.40
蒸馏水 (mL)	0.04	0.04	0.04
混匀，室温静置15 min，蒸馏水调零，波长502nm，测定各管吸光度值 ($\Delta A_{502} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$)。			

注：正式实验前最好取1-2例相对差异较大的样本进行预试， ΔA 大于1时需要稀释样本上清后测定。

六、计算公式：

制作标准曲线：将1mg/ml标准液用60%乙醇稀释成0.1mg/ml、0.08mg/ml、0.06mg/ml、0.04mg/ml、0.02mg/ml几个浓度按操作表标准管及空白管进行实验，得出OD值后绘制标准曲线，如下：

标准液浓度 (mg/ml)	0	0.02	0.04	0.06	0.08	0.1
OD 值	0.015	0.192	0.375	0.566	0.743	0.917



计算公式为：

$$\text{类黄酮含量 (mg/g)} = (\Delta A_{\text{测定}} - 0.0141) \div 9.0771 \times \text{提取液总体积 (2ml)} \div \text{样本质量 (g)}$$

七、技术参数：

- 1、试剂盒检出限为 $1\mu\text{g/ml}$ ，如果 $\Delta A_{\text{测定}}$ 值大于1，则需将样本上清液作适当稀释以后测定；
 - 2、本试剂盒回收率可达95%-100%，稳定性好，准确性高；
 - 3、标准品配置时温度低会使其溶解缓慢， 60°C 振荡溶解时需密封好，防止液体溢出造成损失；
 - 4、假如没有分光光度计，也可用酶标仪进行测定，波长不变（或在 $\pm 10\text{nm}$ 波动范围内选择）。
-
-