

# 植物类黄酮含量检测试剂盒说明书

可见分光光度法

货号：AC10289

规格：50T/24S

**产品组成：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系本公司工作人员。**

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体 50 mL×1 瓶（自备）	常温保存
试剂一	液体 5 mL×1 瓶	4℃保存
试剂二	液体 4 mL×1 瓶	4℃保存
试剂三	液体 30 mL×1 瓶	4℃保存
标准品	粉剂×1 支	4℃保存
标准品稀释液	液体 20 mL×1 瓶	4℃保存

溶液的配制：

- 1、提取液：自备 60%乙醇，常温保存；
- 2、标准品：10 mg 芦丁，临用前加入 1 mL 标准品稀释液配制成 10 mg/mL 标准液。

## 产品说明：

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。

在碱性亚硝酸盐溶液中，类黄酮与铝离子形成在470nm处有特征吸收峰的红色络合物，测定样本提取液在470nm处的吸光值，即可计算样本类黄酮含量。

## 技术指标：

最低检出限：0.00666 mg/mL

线性范围：0.0097-1.75 mg/mL

**注意：**实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

## 需自备的仪器和用品：

天平、烘箱、粉碎仪、30-50目筛、超声破碎仪、60%乙醇、离心机、可见分光光度计、1mL玻璃比色皿、研钵、蒸馏水。

## 操作步骤：

### 一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

将样本烘干至恒重，粉碎，过 30-50 目筛之后，称取约 0.1g，加入 1mL 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。12000rpm，25℃，离心 10min，取上清，用提取液定容至 1mL，待测。

### 二、测定步骤

1. 可见分光光度计预热30min以上，调节波长至470nm，蒸馏水调零。
2. 标准溶液的制备：将10mg/mL芦丁标准溶液用标准品稀释液稀释至1.5、1.25、0.625、0.3125、0.15625、0.078、0.039、0.02mg/mL备用。
3. 操作表

	对照管	测定管	标准管	空白管
样本待测液 (mL)	0.2	0.2		
标准溶液 (mL)			0.2	
蒸馏水 (mL)				0.2
试剂一 (mL)	0.05	0.05	0.05	0.05
混匀，室温静置5min				
试剂二 (mL)		0.05	0.05	0.05
混匀，室温静置5min				
试剂三 (mL)	0.4	0.4	0.4	0.4
60%乙醇 (mL)	0.35	0.3	0.3	0.3
混匀，37°C水浴 45 min, 10000g, 10min 离心取上清，测定 A <sub>470</sub> ，计算 ΔA=A 测定-A 对照，ΔA'=A 标准-A 空白。				

### 三、类黄酮含量计算

1. 标准曲线绘制：以芦丁浓度为横坐标，ΔA'为纵坐标绘制标准曲线 $y=kx+b$ ，将ΔA带入方程求得x (mg/mL)；
2. 按样本质量计算  
类黄酮含量 (mg/g 质量) =  $x \times V_{\text{提取}} \div W = x \div W$
3. 按样本蛋白浓度计算  
类黄酮含量 (mg/mg prot) =  $x \times V_{\text{提取}} \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{提取}}) = x \div C_{\text{pr}}$   
V<sub>提取</sub>：加入提取液体积；1mL；W：样本质量，g；C<sub>pr</sub>：样本蛋白质浓度，mg/mL。

### 注意事项：

1. 如果测定吸光值超过线性范围吸光值，可以增加样本量或者稀释样本后再进行测定。
2. 显色完成后立即测定，2小时后吸光值会下降。

### 实验实例：

- 1、取 0.1g 处理的葡萄皮加入 1mL 提取液后超声破碎，超声功率 300W，破碎 5s，间歇 8s，60°C，提取 30min。12000rpm，25°C，离心 10min，取上清，用提取液定容至 1mL 后按照测定步骤操作，测得计算 ΔA=A 测定-A 对照=0.675-0.325=0.350，带入标曲  $y=0.6197x-0.0059$ ，得出  $x=0.5743$ ，按样本质量计算含量得：  
类黄酮含量 (mg/g 质量) =  $x \div W = 0.5743 \div 0.1 = 5.743$  mg/g 质量。