

黄酮醇含量测定试剂盒说明书

微量法 100 管/48 样

正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

测定意义：

黄酮醇广泛存在于各种植物中，具有很强的抗氧化和清除自由基能力，国内外已对其生理功能或药理做了大量研究。

测定原理：

在中性或弱碱性及亚硝酸钠存在条件下,黄酮醇与铝盐生成螯合物,加入氢氧化钠溶液后显红橙色，在 510nm 处有最大吸光值。

需自备的仪器和用品：

酶标仪、台式离心机、可调式移液器、96 孔酶标板、研钵、冰、蒸馏水。

试剂的组成和配制：

试剂一：液体 60 mL×1 瓶，4℃保存；

试剂二：液体 2 mL×1 管，4℃保存；

试剂三：液体 2 mL×1 管，4℃保存；

试剂四：液体 12 mL×1 瓶，4℃保存。

黄酮醇的提取：

1. 组织：按照组织质量（g）：试剂一体积（mL）为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL 试剂一），进行匀浆，超声提取 30min，8000g，25℃离心 10min，取上清待测。

2. 血清（浆）等液体样品：直接测定。

测定步骤：

1. 酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 510nm。

2. 样本测定

按下表在 EP 管中加入如下试剂

试剂名称（ μL ）	测定管	对照管
样本	100	100
试剂二	15	
混匀，室温放置 5 min		
试剂三	15	
混匀，室温放置 6 min		
试剂四	100	100
蒸馏水	200	230
混匀，室温放置 10 min		

取 200 μL 转移至 96 孔板中，于 510nm 处分别读取测定管和对照管吸光值，分别记为 A 测定和 A 对照，计算 $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。每个测定管设一个对照管。

黄酮醇含量计算：

标准条件下测定回归方程为 $y = 1.5272x - 0.01$ $R^2 = 0.9994$;

x 为芦丁含量（mg/mL），y 为吸光值差值 ΔA 。

1. 按照血清（浆）体积计算

$$\begin{aligned}\text{黄酮醇含量 (mg/mL)} &= (\Delta A + 0.01) \div 1.5272 \\ &= 0.65 \times (\Delta A + 0.01)\end{aligned}$$

2. 按照样品质量计算

$$\begin{aligned}\text{黄酮醇含量 (mg/g 鲜重)} &= [(\Delta A + 0.01) \div 1.5272 \times V1] \div (W \times V1 \div V2) \\ &= 0.65 \times (\Delta A + 0.01) \div W\end{aligned}$$

V1: 加入反应体系中样本体积, 0.1 mL; V2: 加入提取液体积, 1 mL; W: 样本质量, g;