黄酮醇含量测定试剂盒说明书

分光光度法 50 管/24 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：

可见分光光度计、台式离心机、可调式移液器、1mL 玻璃比色皿、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. 分光光度计预热 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	200	200
试剂二	30	
混匀，室温放置 5 min		
试剂三	30	
混匀，室温放置 6 min		
试剂四	200	200
蒸馏水	400	460
混匀，室温放置 10 min		

于 1ml 玻璃比色皿，蒸馏水调零， 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△A=A 测定-A 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 = 3.0544x - 0.01　　R^2 = 0.9994；

x 为芦丁含量（mg/mL），y 为吸光值差值△A。

1. 按照血清（浆）体积计算

黄酮醇含量（mg/mL）= (△A+0.01)÷3.0544

=0.327×(△A+0.01)

2. 按照样品质量计算

黄酮醇含量（mg/g 鲜重）= [(△A+0.01)÷3.0544×V1]÷(W ×V1÷V2）

= 0.327×(△A+0.01)÷W

V1：加入反应体系中样本体积，0.2 mL；V2：加入提取液体积，1 mL； W：样本质量，g；