# 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 200μL 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△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 = 1.5272x - 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)÷1.5272

=0.65×(△A+0.01)

2. 按照样品质量计算

黄酮醇含量（mg/g 鲜重）= [ (△A+0.01)÷1.5272×V1]÷(W ×V1÷V2）

= 0.65×(△A+0.01)÷W

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；