（本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断！）

产品货号：E-BC-K284-S

产品规格：50 assays(36 samples)/100 assays(86 samples)

检测仪器：紫外-可见光分光光度计（510 nm）

Elabscience®植物类黄酮比色法测试盒

Plant Flavonoids Colorimetric Assay Kit

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

电话：400-999-2100

邮箱：biochemical@elabscience.cn

网址：www.elabscience.cn

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。

联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

用途

本试剂盒适用于检测植物组织样本中的类黄酮的含量。

检测原理

在碱性亚硝酸盐溶液中，类黄酮与铝离子形成红色络合物，测定样品提取液在 510 nm 处的吸光值，即可计算样品类黄酮含量。

提供试剂和物品

编号	名称	规格 1 (Size 1) (50 assays)	规格 2 (Size 2) (100 assays)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	1 mg/mL 标准贮备液 (1 mg/mL Standard)	1 mL×1 支	2 mL×1 瓶	2-8℃ 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	盐溶液 (Saline Solution)	2 mL×1 瓶	4 mL×1 瓶	2-8℃ 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	铝试剂 (Aluminium Reagent)	2 mL×1 瓶	4 mL×1 瓶	2-8℃ 保存 6 个月
试剂四 (Reagent 4)	碱溶液 (Alkali Reagent)	25 mL×1 瓶	50 mL×1 瓶	2-8℃ 保存 6 个月

说明：试剂严格按上表中的保存条件保存，不同测试盒中的试剂不能混用。

对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。

所需自备物品

仪器：紫外-可见光分光光度计（510 nm）

试剂：双蒸水或去离子水、60%乙醇

试剂准备

① 检测前，试剂盒中的试剂平衡至室温。

② 不同浓度标准品的稀释：

编号	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦
标准品浓度(μg/mL)	**0**	**20**	**60**	**80**	**100**	**120**	**150**
1 mg/mL 标准品(μL)	0	24	72	96	120	144	180
双蒸水(μL)	1200	1176	1128	1104	1080	1056	1020

样本准备

① 样本处理

取新鲜植物组织(5-10 g)，用水冲洗表面，滤纸吸干，放置于真空干燥箱80ºC 烘干至恒重(两次称量所得质量之差不超过 0.3 mg)，粉碎，过 40 目筛，室温密封保存。

称取 0.02 g 处理后的植物组织粉末，加入 2 mL 60%乙醇，用恒温震荡培养箱 60ºC 震荡 2 小时，25ºC，10000 × g 离心 10 min，取上清，待测；或者用超声波细胞粉碎机进行提取，超声功率 300 W，破碎 3 s，间歇 4 s，提取 30 min，25ºC，10000 × g 离心 10 min，取上清液待测。

② 样本的稀释

在正式检测前，需选择2-3个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验，根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围：0.315-150 μg/mL，可参考下表进行稀释(仅供参考)：

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
樟树叶提取上清	8-15	青椒提取上清	不稀释
胡萝卜提取上清	2-5		

注：稀释液为 60%乙醇。

实验关键点

每次加完试剂二或试剂三，一定要静置 5 min，再加入其他试剂。

操作步骤

① 标准管：取 0.54 mL 6 个不同浓度的标准品，分别加入 6 个 2 mL 的 EP 管中；

测定管：取 0.54 mL 待测样本，加入 2 mL EP 管中。

② 向步骤①中的各管加入 0.03 mL 试剂二，涡旋混匀，室温静置 5 min。

③ 向步骤②中的各管加入 0.03 mL 试剂三，涡旋混匀，室温静置 5 min。

④ 向步骤③中的各管加入 0.4 mL 试剂四，涡旋混匀，室温静置 15 min。

⑤ 510 nm，0.5 cm 光径石英比色皿，双蒸水调零，测定各管吸光度。

操作表

	标准管	**测定管**
不同浓度的标准品（mL）	0.54	--
待测样本（mL）	--	0.54
试剂二（mL）	0.03	0.03
混匀后，室温静置 5 min		
试剂三（mL）	0.03	0.03
混匀后，室温静置 5 min		
试剂四（mL）	0.4	0.4
混匀，静置 15 min，双蒸水调零，0.5 cm 光径石英比色皿，波长 510 nm，测定各管吸光度		

结果计算

标准品拟合曲线： $y = ax + b$

组织样本中类黄酮含量计算公式：

$$类黄酮含量（mg/g\ 组织）= (\Delta A_{510} - b) \div a \times V \div W \div 1000 \times f$$

注解：

y：标准品在 510 nm 波长处的绝对 OD 值（标准品 OD 值-空白 OD 值）

x：标准品的浓度

a：标曲的斜率

b：标曲的截距

ΔA_{510}：样本 OD 值-空白 OD 值

V：加入提取液的体积，2 mL

W：样本质量，0.02 g

1000：单位换算（μg → mg）

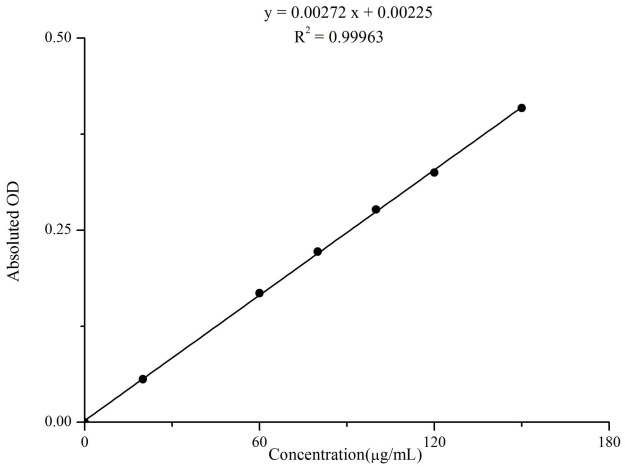
f：样本加入检测体系之前的稀释倍数

附录1 关键数据

1. 技术参数

检测范围	0.315-150 μg/mL	**平均批间差**	2.2 %
灵敏度	0.315 μg/mL	**平均批内差**	1.9 %
平均回收率	98 %		

2. 标准曲线(数据仅供参考)



附录2 实例分析

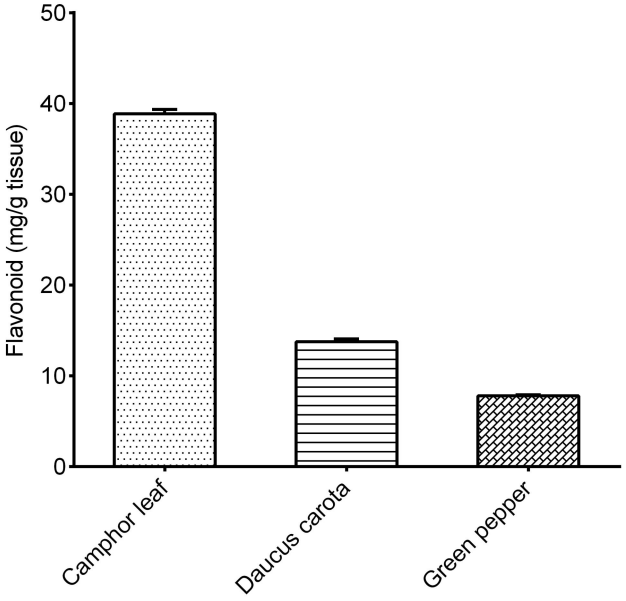
例如检测胡萝卜组织(数据仅供参考)：

取胡萝卜上清用60%乙醇稀释2倍，取0.54 mL稀释液，按说明书操作，结果如下：

标准曲线y = 0.0029 x + 0.0008（R^2=0.9993），测定管平均OD值为0.203，空白管平均OD值为0.0025，带入公式计算结果为：

$$\text{类黄酮含量 (mg/g 组织)} = (0.203 - 0.0025 - 0.0008) \div 0.0029 \times 2 \div 0.02 \div 1000 \times 2 = 13.77 \text{ mg/g 组织}$$

按照说明书操作，测定樟树叶（稀释10倍，加样量为0.54 mL）、胡萝卜（稀释2倍，加样量为0.54 mL）和青椒（加样量为0.54 mL）中类黄酮含量（如下图）：



附录3 问题答疑

问题	可能原因	建议解决方案
复孔差异大	未严格按照说明书操作	严格按照说明书操作
样本和标准品显色很低	每次加完试剂二或试剂三未静置 5 min	严格按照说明书操作，重新检测
样本测不出值	样本稀释倍数太大	选择合适稀释倍数，重新检测
	样本保存时间过长或者保存不当	取新鲜样本，重新检测

声明

1. 试剂盒仅供研究使用，如将其用于临床诊断或任何其他用途，我公司将不对因此产生的问题负责，亦不承担任何法律责任。
2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器，严格按照说明书进行实验。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围。如果样品中待测物浓度过高或过低，请对样本做适当的稀释或浓缩。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中，建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责，不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责，使用前请充分考虑样本可能的使用量，预留充足的样本。

附录4 客户发表文献

1. Lee H Y, Back K. Melatonin Induction and Its Role in High Light Stress Tolerance in Arabidopsis thaliana[J]. Journal of Pineal Research, 2018. IF:15.221
2. Ho Byoung Chae , Min Gab Kim , Chang Ho Kang , et al. Redox sensor QSOX1 regulates plant immunity by targeting GSNOR to modulate ROS generation[J]. Molecular Plant, 2021 Aug; 14:1312. IF:13.164
3. Adhikari B, Adhikari M, Ghimire B, et al. Cold plasma seed priming modulates growth, redox homeostasis and stress response by inducing reactive species in tomato (Solanum lycopersicum)[J]. Free Radical Biology and Medicine, 2020, 156: 57-69. IF:7.376
4. Naseh A, Shirin B, Maryam M,et al.Attenuation of chronic arsenic neurotoxicity via melatonin in male offspring of maternal rats exposed to arsenic during conception: Involvement of oxidative DNA damage and inflammatory signaling cascades[J]. Life Sciences 266 (2021) 118876. IF:5.037
5. Liu S Y, Yi S C, Qiu Z X, et al. Bruceine D, the main active ingredient of Brucea javanica (L.) residue inhibits the germination of Bidens pilosa L. seeds by suppressing phenylpropanoid biosynthesis[J]. Industrial Crops and Products, 2021. IF:4.633
6. Darband S G, Sadighparvar S, Yousefi B, et al. Quercetin attenuated oxidative DNA damage through NRF2 signaling pathway in rats with DMH induced colon carcinogenesis[J]. Life sciences, 2020(253-). IF:3.708
7. Otie V, Udo I, Shao Y, et al. Salinity Effects on Morpho-Physiological and Yield Traits of Soybean (Glycine max L.) as Mediated by Foliar Spray with Brassinolide. Plants (Basel). 2021; 10 (3). IF:2.2