

(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-M

产品规格: 48T(32 samples)/96T(80 samples)

检测仪器: 酶标仪(500-520 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](mailto:biochemical@elabscience.cn)

网址: [www.elabscience.cn](http://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<br>(Size 1)(48 T) | 规格 2<br>(Size 2)(96 T) | 保存方式<br>(Storage) |
|--------------------|-----------------------------------|------------------------|------------------------|-------------------|
| 试剂一<br>(Reagent 1) | 1 mg/mL 标准品<br>(1 mg/mL Standard) | 1.8 mL×1 支             | 1.8 mL×1 支             | 2-8°C<br>保存 6 个月  |
| 试剂二<br>(Reagent 2) | 盐溶液<br>(Saline Solution)          | 1 mL×1 支               | 1 mL×2 支               | 2-8°C<br>保存 6 个月  |
| 试剂三<br>(Reagent 3) | 铝试剂<br>(Aluminium Reagent)        | 1.8 mL×1 支             | 1.8 mL×2 支             | 2-8°C<br>保存 6 个月  |
| 试剂四<br>(Reagent 4) | 碱溶液<br>(Alkali Reagent)           | 15 mL×1 瓶              | 30 mL×1 瓶              | 2-8°C<br>保存 6 个月  |
|                    | 96 孔酶标板                           | 1 板                    |                        |                   |
|                    | 96 孔覆膜                            | 2 张                    |                        |                   |
|                    | 样本位置标记表                           | 1 张                    |                        |                   |

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：酶标仪(500-520 nm, 最佳检测波长 510 nm)

试剂：无水乙醇(AR), 60%无水乙醇

## 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    | ⑧    |
|------------------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| 标准品浓度( $\mu\text{g/mL}$ )    | 0    | 20   | 40   | 60   | 80   | 100  | 120  | 150  |
| 1 mg/mL 标准品( $\mu\text{L}$ ) | 0    | 24   | 48   | 72   | 96   | 120  | 144  | 180  |
| 无水乙醇( $\mu\text{L}$ )        | 1200 | 1176 | 1152 | 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 80°C 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 60°C 震荡 2 小时，25°C，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，25°C，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：0.66-150 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  |
|----|-------|----|-------|
| 绿萝 | 10-15 | 南瓜 | 不稀释   |
| 青椒 | 不稀释   | 石楠 | 25-35 |

注：稀释液为 60% 无水乙醇。

## 实验关键点

① 每次加完试剂二或试剂三，一定要室温静置 5 min，再加入其他试剂。

② 加入试剂四时，室温静置 15 min。

## 操作步骤

- ① 标准孔:取 75  $\mu\text{L}$  不同浓度的标准品溶液,分别加入相应的酶标孔中。  
待测孔: 取 75  $\mu\text{L}$  样本提取液加入相应的酶标孔中。
- ② 向①中加入 10  $\mu\text{L}$  试剂二, 震荡 5 s, 室温静置 5 min。
- ③ 向②中加入 30  $\mu\text{L}$  试剂三, 震荡 5 s, 室温静置 5 min。
- ④ 向③中加入 180  $\mu\text{L}$  试剂四, 震荡 5 s, 室温静置 15 min。
- ⑤ 酶标仪 510 nm 波长下检测, 测定各孔吸光度。

## 操作表

|  | 标准孔 | 待测孔 |
|--|-----|-----|
| 不同浓度的标准品溶液( $\mu\text{L}$ )                | 75  | --  |
| 待测样本( $\mu\text{L}$ )                      | --  | 75  |
| 试剂二( $\mu\text{L}$ )                       | 10  | 10  |
| 震荡 5 s, 室温静置 5 min                         |     |     |
| 试剂三( $\mu\text{L}$ )                       | 30  | 30  |
| 震荡 5 s, 室温静置 5 min                         |     |     |
| 试剂四( $\mu\text{L}$ )                       | 180 | 180 |
| 震荡 5 s, 室温静置 15 min, 酶标仪波长 510 nm 下测定各孔吸光度 |     |     |

## 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:

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

(mg/g 组织)

注解:

y: 标准品 OD 值-空白 OD 值(标准品浓度为 0 时的 OD 值)

x: 标准品的浓度

$\Delta A_{510}$ : 样本 OD 值-空白 OD 值

a: 标曲的斜率

b: 标曲的截距

V: 加入提取液的体积, 2 mL

W: 样本质量, 0.02 g

1000: 1 mg=1000  $\mu$ g

f: 样本加入检测体系前的稀释倍数

## 附录1 关键数据

### 1. 技术参数

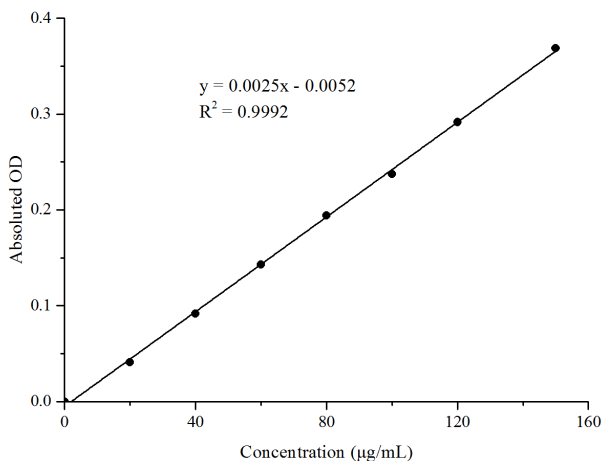
|       |                           |       |       |
|-------|---------------------------|-------|-------|
| 检测范围  | 0.66-150 $\mu\text{g/mL}$ | 平均批间差 | 5.3 % |
| 灵敏度   | 0.66 $\mu\text{g/mL}$     | 平均批内差 | 4.0 % |
| 平均回收率 | 103 %                     |       |       |

### 2. 标准曲线(数据仅供参考)

①不同浓度的标准品加样量75  $\mu\text{L}$ ，按照操作步骤进行实验，各点OD值如下表所示：

| 标准品浓度<br>( $\mu\text{g/mL}$ ) | 0     | 20    | 40    | 60    | 80    | 100   | 120   | 150   |
|-------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| OD 值                          | 0.038 | 0.087 | 0.133 | 0.179 | 0.230 | 0.277 | 0.323 | 0.385 |
|                               | 0.038 | 0.087 | 0.133 | 0.179 | 0.230 | 0.277 | 0.323 | 0.385 |
| 平均 OD 值                       | 0.038 | 0.087 | 0.131 | 0.181 | 0.230 | 0.276 | 0.322 | 0.385 |
| 绝对 OD 值                       | 0     | 0.049 | 0.093 | 0.143 | 0.192 | 0.238 | 0.284 | 0.347 |

②制标准曲线，如下图所示：



## 附录2 实例分析

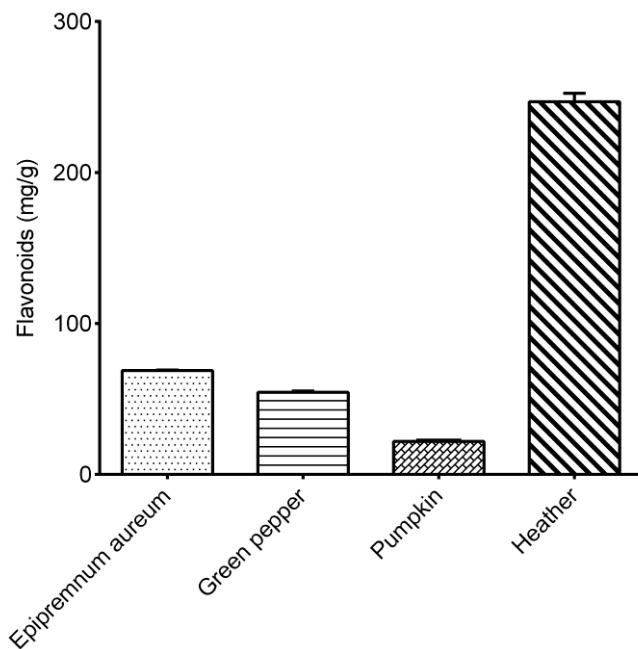
例如检测绿萝组织(数据仅供参考):

制备的绿萝组织上清液用60%无水乙醇稀释10倍,取稀释后的样本75  $\mu\text{L}$ ,按操作表操作,结果如下:

标准曲线:  $y = 0.0025x - 0.0052$ , 空白孔平均OD值为0.04, 测定孔平均值为0.186, 计算结果为:

$$\text{类黄酮含量 (mg/g 组织)} = (0.186 - 0.04 + 0.0052) \div 0.0025 \times 2 \div 0.02 \div 1000 \times 10 = 60.48 \text{ mg/g 组织}$$

按说明书操作,测定绿萝组织上清液(稀释10倍,加样量75  $\mu\text{L}$ )、青椒组织上清液(加样量75  $\mu\text{L}$ )、南瓜组织上清液(加样量75  $\mu\text{L}$ )、石楠组织上清液(稀释30倍,加样量为75  $\mu\text{L}$ )中的类黄酮含量(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



