

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

产品货号：GBQ158

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

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)(48 T)	规格 2 (Size 2)(96 T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	1 mg/mL 标准品 (1 mg/mL Standard)	1.8 mL×1 支	1.8 mL×1 支	2-8℃ 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	盐溶液 (Saline Solution)	1 mL×1 支	1 mL×2 支	2-8℃ 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	铝试剂 (Aluminium Reagent)	1.8 mL×1 支	1.8 mL×2 支	2-8℃ 保存 6 个月
试剂四 (Reagent 4)	碱溶液 (Alkali Reagent)	15 mL×1 瓶	30 mL×1 瓶	2-8℃ 保存 6 个月
	96 孔酶标板	48 孔×1 块	96 孔×1 块	无要求
	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(μg/mL)	0	20	40	60	80	100	120	150
1 mg/mL 标准品(μL)	0	24	48	72	96	120	144	180
无水乙醇(μL)	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℃ 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℃ 震荡 2 小时，25℃，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℃，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 μL 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 μL 样本提取液加入相应的酶标孔中。
- ② 向①中加入 10 μL 试剂二，震荡 5 s，室温静置 5 min。
- ③ 向②中加入 30 μL 试剂三，震荡 5 s，室温静置 5 min。
- ④ 向③中加入 180 μL 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(μL)	75	--
待测样本(μL)	--	75
试剂二(μL)	10	10
震荡 5 s，室温静置 5 min		
试剂三(μL)	30	30
震荡 5 s，室温静置 5 min		
试剂四(μL)	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:

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

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

ΔA_{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: $1 \text{ mg} = 1000 \text{ } \mu\text{g}$

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

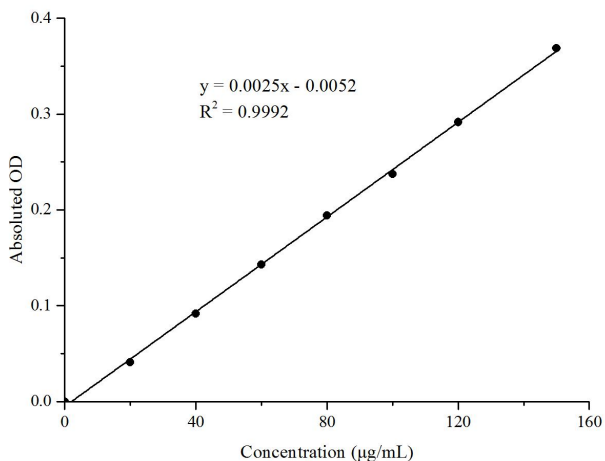
检测范围	0.66-150 µg/mL	平均批间差	5.3 %
灵敏度	0.66 µg/mL	平均批内差	4.0 %
平均回收率	103 %		

2. 标准曲线(数据仅供参考)

①不同浓度的标准品加样量75 µL，按照操作步骤进行实验，各点OD值如下表所示：

标准品浓度 (µg/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

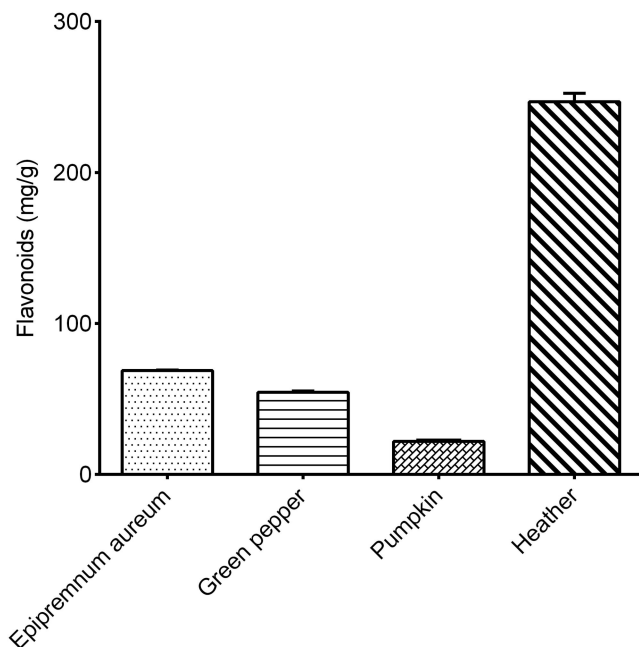
例如检测绿萝组织(数据仅供参考):

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 μL ,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:

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 μL)、青椒组织上清液(加样量75 μL)、南瓜组织上清液(加样量75 μL)、石楠组织上清液(稀释30倍,加样量为75 μL)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. Ote 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

