

植物类黄酮 (Flavonoid) 含量 检测试剂盒微板法

使用说明书

产品货号: BP10488W

注意: 请在试剂盒保质期内使用, 具体保质期见外包装标签。

本产品仅供科学研究使用, 不能用于临床诊断。

检测范围: 3-150 μ g/mL

灵敏度: 3 μ g/mL

有效期: 6 个月

保存温度: 2-8 $^{\circ}$ C/-20 $^{\circ}$ C

检测原理:

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

注意事项:

1. 不能使用过期产品，不同货号 and 批号组分不得混用。
2. 本试剂开封后请尽快使用，以免空气、采样污染引起试剂变质。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 如果可能传播疾病，所有的样品都应管理好，按照规定的程序处理样品和检测装置。
5. 试剂严格按保存条件保存，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。试剂盒中如有提供粉剂，使用前请甩几下，使粉剂落入底部。

试剂盒组分：

试剂名称	规格（48T/40S）	规格（96T/88S）	保存条件
试剂一	1mL×1 瓶	2mL×1 瓶	2-8℃
试剂二	2mL×1 瓶	4mL×1 瓶	-20℃
试剂三	10mL×1 瓶	20mL×1 瓶	2-8℃
标准品	粉剂×1 瓶	粉剂×1 瓶	2-8℃

所需仪器耗材及试剂：

离心机、酶标仪、可调式移液器、蒸馏水、恒温箱、无水乙醇、60%乙醇、水浴锅。

样本处理及要求:

1. **试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围**, 建议实验前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定, 根据预实验的结果, 结合本试剂盒的线性范围: 3-150 $\mu\text{g/mL}$, 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, 样本的稀释液为 60%乙醇。
2. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中, 建议做预实验验证其检测有效性。
3. **组织样本**: 按取新鲜植物组织(5-10g), 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 0.3mg), 粉碎, 过 40 目筛, 室温密封保存。称取 0.02g 处理后的植物组织粉末, 加入 2mL60% 乙醇, 用恒温震荡培养箱 60°C 震荡 2 小时, 或者水浴锅(偶尔手动混匀), 25°C, 10000 g 离心 10min, 取上清, 待测; 或者用超声波细胞粉碎机进行提取, 超声功率 300W, 破碎 3s, 间歇 4s, 提取 30min, 25°C, 10000 g 离心 10min, 取上清液待测。

检测前准备工作:

1. 请提前取出试剂盒，平衡至室温。
2. **标准品配制：**使用前取一瓶加入 3mL60%乙醇，务必超声或者持续震荡 5 分钟使其溶解，溶解后为 1mg/mL 浓度的标准品母液，用无水乙醇稀释成以下浓度梯度的标准品：0、20、40、60、80、100、120、150 $\mu\text{g/mL}$ 。(注：配制目标浓度的标准品工作液时，每次请根据表格从标准品母液中取对应的体积与相应稀释液混合均匀后使用)。

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
1mg/mL 标准品(μL)	0	10	20	30	40	50	60	75
无水乙醇(μL)	500	490	480	470	460	450	440	425

也可根据实际样本来调整标准品浓度。按照标准孔加样体系操作，依据结果即可制作标准曲线；本说明书中的标曲是用无水乙醇稀释得出，若选取其他稀释液可选择重做标曲。

操作步骤:

1. 酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 510nm。
2. 样本测定 (在 96 孔板中依次加入):

试剂名称(μ L)	标准孔	测定孔
不同浓度标准品	75	
样本		75
试剂一	10	10
混匀震荡 5s, 室温静置 5min。		
试剂二	30	30
混匀震荡 5s, 室温静置 5min。		
试剂三	180	180
混匀震荡 5s, 室温静置 15min, 在 510nm 处测各孔吸光值。		

注意:

1. 每次加完试剂一或试剂二, 一定要室温静置 5min, 再加入其他试剂。
2. 每次加完试剂务必混匀。

实验结果结算：

1. 标准品拟合曲线： $y=ax+b$

2. 组织样本中类黄酮含量计算公式：

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

注：

y: 标准品 OD 值-空白孔 OD 值

(标准品浓度为 0 时的 OD 值)

a: 标曲的斜率

x: 标准品的浓度

b: 标曲的截距

W: 样本质量, g

ΔA : 测定孔 OD 值-空白孔 OD 值

(标准品浓度为 0 时的 OD 值)

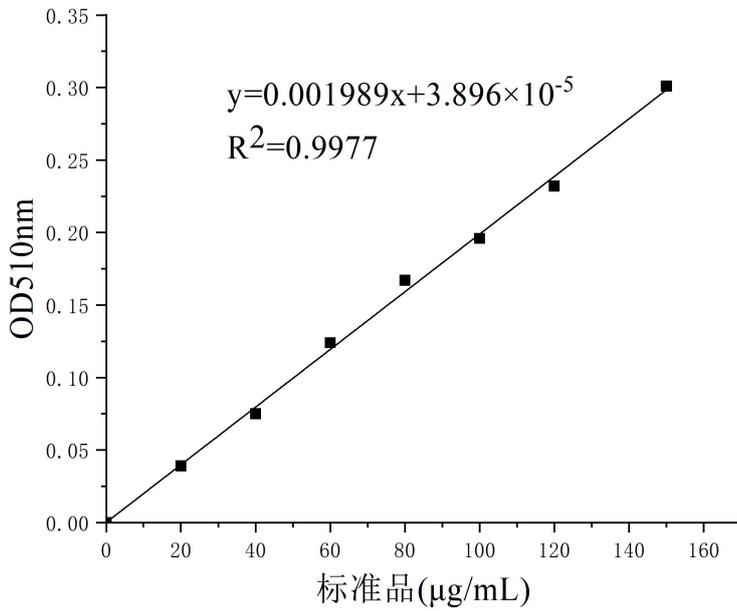
N: 样本的稀释倍数

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

V: 加入提取液的体积, 2mL

参考曲线:

$y=0.001989x+3.896 \times 10^{-5}$, $R^2=0.9977$, x 是标准品的浓度 ($\mu\text{g/mL}$), y 是 Δ A。



注意: 本图仅供参考, 应以每次实验数据所绘制标准曲线计算样本含量。