

CheKine™ 植物类黄酮含量检测试剂盒（微量法）

货号: KTB1530

规格: 48 T/24 S

96 T/48 S

批号: 见产品标签

	检测范围: 0.156-10 mg/g		灵敏度: 0.078 mg/g
	适用样本: 植物组织		
	保质期: 4℃, 避光保存 6 个月		

01 背景与原理

类黄酮是一类多酚化合物, 属于植物次生代谢物, 对人体具有消炎, 抗菌, 降血脂, 清除体内羟自由基, 预防癌症等作用。槲皮素是典型的类黄酮。

本试剂盒检测原理是在碱性亚硝酸盐溶液中, 植物样本中类黄酮与铝离子形成在 502 nm 处有特征吸收峰的红色络合物, 测定样品提取液在 502 nm 处的吸光值, 即可计算样品类黄酮含量。

02 包装清单

试剂盒组分	规格		储存要求
	48 T	96 T	
Nitrite Solution	1.1 mL	2.2 mL	4℃
Chromogen	1 mL	2 mL	4℃
NaOH Solution	8.5 mL	17 mL	4℃
Quercetin Standard (10 mg/mL)	0.1 mL	0.2 mL	4℃, 避光保存

*请在实验前检查各组分的量。

*各组分在规格基础上额外提供 10% 的量用于进行标准曲线制作或预实验。

03 自备仪器与试剂

自备资源类型	资源名称	备注
仪器	酶标仪	能测 502 nm 处的吸光度
耗材	96 孔酶标板	普通透明板
试剂	去离子水/60%乙醇	空白管或提取/稀释样本/Standard 用
其他	粉碎仪（或破壁机）、超声破碎仪、40 目筛、离心机、 可调式移液枪及枪头	检测量较大时合理使用多通道移液器有 助于提高实验效率

04 注意事项

- 正式检测前，建议选择 2-3 个预期差异较大的样本进行预实验。
- 对于组织样本及细胞样本等，可通过测定蛋白浓度来进行样本间结果均一化。推荐使用亚科因货号：KTD3001 的蛋白质定量试剂盒（BCA 法）。
- 本试剂盒兼容分光光度计检测，请按照分光光度计检测要求按比例调节检测试剂配制量。如有疑问，可咨询本司技术人员（400-6800-830）。
- 建议实验者自行建立标准曲线以提高结果准确度。如未自行建立标准曲线，可参考结果展示部分的典型标准曲线公式进行结果计算。
- 生化检测试剂普遍具有刺激性、生物毒性等，为了您的安全和健康，请在实验全程做好生物安全防护，穿戴实验服、口罩、手套、头套等安全护具，在通风橱、生物安全柜中进行实验。
- 本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。

05 实验流程

05-1 试剂准备

05-1-1 试剂准备

试剂名称	试剂准备	注意事项
Extraction Buffer	自备 60%乙醇	室温保存
Nitrite Solution	即用型；使用前，平衡到室温	4℃保存。有一定毒性，注意防护
Chromogen	即用型；使用前，平衡到室温	4℃保存。有一定刺激性，注意防护
NaOH Solution	即用型；使用前，平衡到室温	4℃保存。有一定刺激性，注意防护

05-1-2 标准品配制

将 50 μL 10 mg/mL Quercetin Standard 用 450 μL Extraction Buffer 稀释至 1 mg/mL，然后按下表所示，用 Extraction Buffer 进一步将标准品稀释至 1、0.5、0.25、0.125、0.0625、0.0313、0.0156 mg/mL。用不完的 10 mg/mL Quercetin Standard 4℃避光保存。每次实验都要做一次标准品检测，制作标曲；稀释后的标准品溶液不稳定，必须在 4 小时内使用。（Quercetin Standard 有一定刺激性，注意防护）

Standard 工作液	标准品体积 (μL)	Extraction Buffer 体积 (μL)	浓度 (mg/mL)
1	50 μL of 10 mg/mL	450	1
2	100 μL of Std.1 (1 mg/mL)	100	0.5
3	100 μL of Std.2 (0.5 mg/mL)	100	0.25
4	100 μL of Std.3 (0.25 mg/mL)	100	0.125
5	100 μL of Std.4 (0.125 mg/mL)	100	0.0625
6	100 μL of Std.5 (0.0625 mg/mL)	100	0.0313
7	100 μL of Std.6 (0.0313 mg/mL)	100	0.0156

05-2 样本制备

注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存 1 个月。

- **纤维较多的植物组织：**将植物样本烘干至恒重，粉碎并过 40 目筛之后，称取约 0.1 g，加入 1 mL Extraction Buffer，用超声提取法进行提取（功率 300 W，超声 5s，间歇 8s，总时间 30 min，温度 60℃），然后 12000 rpm，25℃离心 10 min，取上清，用 Extraction Buffer 定容至 1 mL，待测。
- **纤维较少的幼嫩植物组织：**直接称取约 0.1 g 的新鲜组织，加入 1 mL Extraction Buffer 捣碎，超声提取（功率 300 W，超声 5 s，间歇 8 s，总时间 30 min，温度 60℃），然后 12000 rpm，25℃离心 10 min，取上清，用 Extraction Buffer 定容至 1 mL，待测。

05-3 实验步骤

1. **酶标仪准备：**预热 30 min 以上，调节波长到 502 nm。
2. **检测体系配制：**按如下体系在 1.5 mL EP 管中进行检测体系配制。每个样本都需要设置一个对照管，空白管和标准管一般只做 1 次，正式测定前务必选择 2-3 个预期差异较大的样本做预实验。

试剂	空白管 (μL)	标准管 (μL)	测定管 (μL)	对照管 (μL)
样本	0	0	60	60
不同浓度 Std.	0	60	0	0
去离子水	60	0	0	0
Nitrite Solution	15	15	15	15
混匀，室温静置 5 min。				
Chromogen	15	15	15	0
混匀，室温静置 5 min。				
NaOH Solution	120	120	120	120
60%乙醇	90	90	90	105

3. 混匀，室温静置 15 min。

4. 吸光度检测：取 200 μL 于 96 孔板中测定 502 nm 处吸光值 A，分别记为 $A_{\text{空白}}$ 、 $A_{\text{标准}}$ 、 $A_{\text{测定}}$ 、 $A_{\text{对照}}$ 。显色完成后立即测定，2 小时后吸光值会下降。

06 结果计算

06-1 自动计算

为帮助您更轻松、准确地完成相关计算，我们特在官网提供了“在线计算器小工具”。您无需手动计算，只需在网页上输入数值，即可快速获得可靠结果。访问方式：请扫描右侧二维码或访问官网[<https://www.abbkine.cn>]>进入“技术中心”>查找“在线计算器”工具。



06-2 手动计算

以下为您提供的推导过程计算公式和简洁计算公式，两者完全相等。

1. 数据处理

计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。

2. 标准曲线绘制

以标准品浓度为 y 轴， $\Delta A_{\text{标准}}$ 为 x 轴，绘制标准曲线。将 $\Delta A_{\text{测定}}$ 代入方程得到 y 值 (mg/mL)。

3. 样本类黄酮含量计算

● 按样本质量计算

类黄酮含量(mg/g) = $y \times V_{\text{提取}} \div W \times n = y \div W \times n$

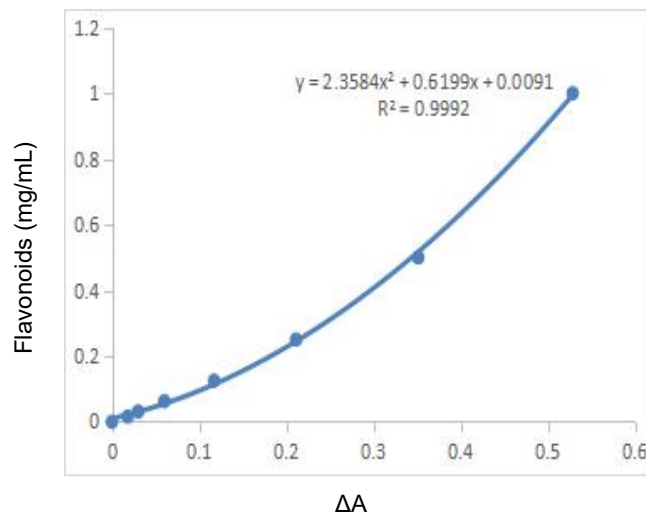
● 按蛋白浓度数量计算

类黄酮含量(mg/mg prot) = $y \times V_{\text{提取}} \div (Cpr \times V_{\text{提取}}) \times n = y \div Cpr \times n$

$V_{\text{提取}}$ ：加入 Extraction Buffer 体积，1 mL；W：样品质量，g；n：样本稀释倍数；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL。

07 结果展示

典型标准曲线：



示例-1: 取 0.1 g 干绿豆，按照测定步骤操作，用 96 孔板进行检测。测得 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}} = 0.191 - 0.102 = 0.089$ ，代入标准曲线，计算 $y = 0.132$ 。按样本质量计算得：类黄酮含量(mg/g) = $y \times V_{\text{提取}} \div W \times n = y \div W \times n = 1.32 \text{ mg/g}$ 。

08 FAQ

● 检测得到的样本 $\Delta A_{\text{测定}}$ 过高或者过低怎么办？

如果样本 $\Delta A_{\text{测定}} > 0.6$ ，则说明样本类黄酮含量太高，需用 Extraction Buffer 适当稀释（计算公式中乘以相应稀释倍数）。如果样本的 $\Delta A_{\text{测定}} < 0.02$ ，可适当提高样本量。

09 相关产品

货号	试剂盒名称
KTB1500	CheKine™ 总抗氧化能力（TAC）检测试剂盒（微量法）
KTB1080	CheKine™ 超氧阴离子清除能力检测试剂盒（微量法）
KTB1091	CheKine™ 羟自由基清除能力检测试剂盒（微量法）
KTB1510	CheKine™ 尿酸（UA）含量检测试剂盒（微量法）
KTB1520	CheKine™ 植物原花青素（OPC）含量检测试剂盒（微量法）
KTB1540	CheKine™ 植物总酚（TP）含量检测试剂盒（微量法）

CheKine™ 植物类黄酮含量检测流程示意图

(Abbkin 货号：KTB1530)

样本处理

体系配置

数据检测

