

CheKine™ 植物花色苷含量检测试剂盒（微量法）

货号: KTB3011

规格: 48 T/48 S

96 T/96 S

批号: 见产品标签

	适用样本: 植物组织
	保质期: 4℃保存 12 个月

01 背景与原理

花色苷是一类易溶于极性溶剂的天然色素, 属黄酮类化合物, 广泛存在于植物的根、茎、叶、花和果实中, 使其呈现由红到紫等不同颜色, 是植物主要的呈色物质。

本试剂盒检测原理是采用 pH 示差法测定花色苷含量, 当 pH 为 1.0 时花色苷在 530 nm 处有最大吸收峰, 而当 pH 为 4.5 时, 花色苷转变为无色查尔酮形式, 在 530 nm 处无吸收峰, 利用此特性分别测定在不同 pH 下的 530 nm 和 700 nm 处的吸光度值。pH 示差法减少了溶液 pH 和溶剂差异的影响, 排除了其他非花色苷类物质对检测结果的干扰。

02 包装清单

试剂盒组分	规格		储存要求
	48 T	96 T	
Extraction Buffer	60 mL	120 mL	4℃
Reagent I	11 mL	22 mL	4℃
Reagent II	11 mL	22 mL	4℃

*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 530 nm 和 700 nm 处的吸光度
耗材	96 孔酶标板	普通透明板
其他	匀浆器（组织样本）、恒温水浴锅、离心机、可调节式移液枪及枪头	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）。
- 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

试剂名称	试剂准备	注意事项
Extraction Buffer	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存
Reagent I	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存
Reagent II	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存；Reagent II 有轻微刺激性气味，建议在使用过程中做好个人防护

05-2 样本制备

- 注意：1. 推荐使用新鲜样本。样本尽量新鲜提取，如果不能当天提取，则把分装的组织块保存在-80℃，一个月内使用。当准备好进行该项实验时，将样本从-80℃拿出后，冰上解冻。但是请注意，这可能会影响样本的稳定性，实验结果可能会低于预期。
2. 提取液中含有使蛋白变性的成分，若按蛋白浓度计算时，需要重新用去离子水提取蛋白进行测定。
- 植物组织：称取约 0.1 g 样本，加入 1 mL Extraction Buffer，充分匀浆后转移到 EP 管中，用 Extraction Buffer 定容至 1 mL，盖紧后 4℃浸提 24 h，期间可震荡数次。8000 g，常温离心 10 min，取上清液待测。

05-3 实验步骤

1. 酶标仪准备：预热 30 min 以上，调节波长到 530 nm 和 700 nm。
2. Reagent I 和 Reagent II 25℃（室温）预热 10 min 以上。
3. 取 20 μL 上清液和 180 μL Reagent I（相当于稀释 10 倍），40℃水浴 20 min，分别测定 530 nm 和 700 nm 处的吸光值，记为 A₅₃₀ 和 A₇₀₀。

4. 取 20 μL 上清液和 180 μL Reagent II（相当于稀释 10 倍），40 $^{\circ}\text{C}$ 水浴 20 min，分别测定 530 nm 和 700 nm 处的吸光值，记为 B_{530} 和 B_{700} 。

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[\[https://www.abbkine.cn\]](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 $\Delta A = (A_{530} - A_{700}) - (B_{530} - B_{700})$

2. 样本花色苷含量计算

● 按样本质量计算

花色苷含量 ($\mu\text{g/g}$) = $[\Delta A \times V_{\text{提}} \div V_{\text{样}} \div (\epsilon \times d) \times M \times n \times 10^6] \div (W \div V_{\text{样}}) = 33.398 \times \Delta A \div W \times n$

● 按样本蛋白浓度计算

花色苷含量 ($\mu\text{g/mg prot}$) = $[\Delta A \div V_{\text{样}} \div (\epsilon \times d) \times M \times n \times 10^6] \div (\text{Cpr} \div V_{\text{样}}) = 33.398 \times \Delta A \div \text{Cpr} \times n$

$V_{\text{提}}$: 提取液体积, 1×10^{-3} L; ϵ : 花色苷的摩尔消光系数, 2.69×10^4 L/mol/cm; $V_{\text{样}}$: 0.02 mL; d : 96 孔板光径, 0.5 cm; M : 花色苷的相对分子质量: 449.2 g/mol; n : 样本稀释倍数; Cpr : 样本蛋白浓度, mg/mL; 10^6 : $1 \text{ g} = 10^6 \mu\text{g}$; W : 样本质量: g。

07 结果展示

示例 -1: 取 0.098 枸杞干，按照测定步骤操作，用 96 孔板进行检测。测得 $\Delta A = (A_{530} - A_{700}) - (B_{530} - B_{700}) = (0.204 - 0.146) - (0.106 - 0.085) = 0.058 - 0.021 = 0.037$ 。按样本质量计算得：花色苷含量 ($\mu\text{g/g}$) = $33.398 \times \Delta A \div W \times n = 126.09 \mu\text{g}$

08 FAQ

● 检测得到的样本 ΔA 过高或者过低怎么办？

如果 A_{530} 大于 1.0，样本可用 Extraction Buffer 进一步稀释，保证总体积 200 μL 不变，如 10 μL 上清液和 190 μL Reagent I（相当于稀释 20 倍）；如果 A_{530} 小于 0.1，可以适当缩小稀释倍数，保证总体积不变，如 100 μL 上清液和 100 μL Reagent I（相当于稀释 2 倍），使 A_{530} 保持在 0.1-1 范围内；同样调整上清液和 Reagent II 体积比例，结果乘以稀释倍数。

09 相关产品

货号	试剂盒名称
KTB1100	CheKine™ 乳酸 (LA) 含量检测试剂盒（微量法）
KTB1121	CheKine™ 丙酮酸 (PA) 含量检测试剂盒（微量法）

CheKine™ 植物花色苷含量检测流程示意图

(Abbkin 货号：KTB3011)

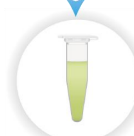
样本处理



加入1 mL Extraction Buffer，充分匀浆后转移到EP管中，用Extraction Buffer定容至1 mL，盖紧后4℃浸提24 h，期间可震荡数次



8000 g，常温离心10 min，取上清



体系配置



上清液
Reagent I

20 μ L
180 μ L

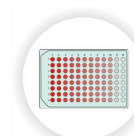


上清液
Reagent II

20 μ L
180 μ L

40℃水浴20 min

数据检测



分别测定530和700 nm吸光度
结果计算