

植物总酚（TP）含量检测试剂盒说明书

微量法

货号：BC1345

规格：100T/48S

产品组成：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体 125 mL×1 瓶（自备）	常温保存
试剂一	液体 5 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	液体 8 mL×1 瓶	2-8℃保存
标准品	粉剂×1 支	2-8℃保存

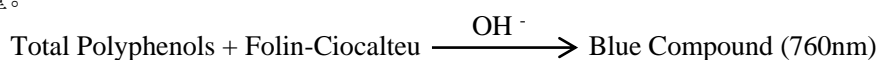
溶液的配制：

- 1、提取液：自备 60%乙醇，常温保存。
- 2、标准品：5mg 没食子酸。临用前加入 1mL 蒸馏水，50℃加热溶解，配制成 5mg/mL 的标准溶液，2-8℃保存两周。

产品说明：

植物酚类物质具有清除自由基，抗氧化抗衰老的作用，具有较高的营养价值和医疗保健作用而广泛应用于化妆品、食品、医药等领域。

在碱性条件下，酚类物质将钨钼酸还原，产生蓝色化合物，在760nm处有特征吸收峰，测760nm处的吸光值，即可得样本总酚含量。



技术指标：

最低检出限：0.0015 mg/mL

线性范围：0.0024-0.3125 mg/mL

注意：实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿/96孔板、天平、烘箱、粉碎仪/研钵、30-50目筛、超声清洗仪、60%乙醇、台式离心机、蒸馏水。

操作步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

将样本烘干至恒重，粉碎，过 30-50 目筛之后，称取约 0.1g，加入 2.5mL 提取液，用超声提取法进行提取，超声功率 300W，温度 60℃，提取 30min。12000rpm，25℃，离心 10min，取上清，用提取液定容至 2.5mL，待测。

二、测定步骤

1. 分光光度计或酶标仪预热30min以上，调节波长至760nm，分光光度计蒸馏水调零。
2. 标准液的稀释：将5mg/mL没食子酸标准溶液用蒸馏水稀释至0.1562、0.0781、0.0391、0.0195、0.0098、0.0049 mg/mL，待测。
3. 标准液稀释可参考下表：

序号	稀释前浓度(mg/mL)	标准液体积(μL)	蒸馏水体积(μL)	稀释后浓度(mg/mL)
1	5	125	875	0.625
2	0.625	250	750	0.15625
3	0.15625	200	200	0.078125
4	0.078125	200	200	0.0391
5	0.0391	200	200	0.0191
6	0.0191	200	200	0.0098
7	0.0098	200	200	0.0049

备注：实验中每个标准管需 10μL 标准溶液。

4. 操作表

试剂名称	对照管	测定管	标准管	空白管
样本待测液(μL)	10	10	-	-
标准液(μL)	-	-	10	-
蒸馏水(μL)	-	-	-	10
试剂一(μL)	-	50	50	50
涡旋混匀，室温准确静置2min				
试剂二(μL)	50	50	50	50
蒸馏水(μL)	140	90	90	90
涡旋混匀，室温准确静置 10 min，于微量玻璃比色皿/96 孔板中测定 760nm 处的吸光值，分别记为 A 对照管、A 测定管、A 标准管、A 空白管。计算 ΔA 测定=A 测定管-A 对照管，ΔA 标准=A 标准管-A 空白管。每个测定管需设一个对照管。标准曲线和空白管只需测 1-2 次。				

三、总酚含量计算

1. 标准曲线绘制：根据标准管的浓度 (x, mg/mL) 和吸光度 ΔA 标准 (y, ΔA 标准)，建立标准曲线。根据标准曲线，将 ΔA 测定 (y, ΔA 测定) 带入公式计算样本浓度 (x, mg/mL)。

2. 植物总酚含量计算：

(1) 按样本质量计算：总酚含量 (mg/g 质量) = $x \times V_{\text{提取}} \div W = 2.5x \div W$

(2) 按样本蛋白浓度计算：总酚含量 (mg/mg prot) = $x \times V_{\text{提取}} \div (V_{\text{提取}} \times C_{\text{pr}}) = x \div C_{\text{pr}}$

V_{提取}：加入提取液体积，2.5mL；C_{pr}：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g。

注意事项：

- 如果测定吸光值超过线性范围吸光值，可以增加样本量或者稀释样本后再进行测定。注意同步修改计算公式。
- 试剂一对皮肤有一定的刺激性，请操作时做好防护措施。

实验实例：

1、取 0.1g 处理的紫花加入 2.5mL 提取液，进行样本处理后按照测定步骤操作，使用 96 孔板测得计算 ΔA 测定=A 测定管-A 对照管=0.506-0.041=0.465，带入标曲 $y=3.083x+0.01$ ，得出 $x=0.1476$ ，按样本质量计算含量得：

总酚含量 (mg/g 质量) = $2.5x \div W = 2.5 \times 0.1476 \div 0.1 = 3.69$ mg/g 质量。

相关发表文献：

[1] Wang Y, Gao S, He X, et al. Response of total phenols, flavonoids, minerals, and amino acids of four edible fern species to four shading treatments[J]. PeerJ, 2020, 8: e8354.

相关系列产品：

- BC1300/BC1305 铜蓝蛋白 (Cp) 活性检测试剂盒
- BC1310/BC1315 总抗氧化能力 (T-AOC) 检测试剂盒
- BC1370/BC1375 总巯基含量检测试剂盒