

上海茁彩生物科技有限公司
ZCIBIO Technology Co., Ltd



生化检测原理示意图

Cat. NO: ZC-S0357

Size: 100T/48S

植物总酚（TP）含量检测试剂盒说明书

微量法

*正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

一、测定意义：

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。

二、测定原理：

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，即可得样品总酚含量。

三、需自备的仪器和用品：

天平、烘箱、粉碎仪、筛子、超声破碎仪、60%乙醇、离心机、可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿/96 孔板、蒸馏水。

四、试剂的组成和配置：

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	60%乙醇	自备	—
试剂一	液体 5mL×1 瓶	4℃保存	—
试剂二	液体 8mL×1 瓶	4℃保存	—
标准品	液体 1mL×1 支	4℃保存	1mg/mL 单宁酸标准溶液

四、操作步骤：

一、总酚提取：

将样本烘干至恒重，粉碎，过 40 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，破碎 5s，间歇 8s，60℃，提取 30min。12000rpm，25℃，离心 10min，取上清，用提取液定容至 2.5mL，待测。

二、标准品制备：

将 1mg/mL 单宁酸标准溶液梯度稀释至：0.625、0.3125、0.1562、0.0781、0.0391、0.0195、0.0098、0.0049、0.0024、0.0012mg/mL，待测。

三、测定操作表：

1、分光光度计或酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 760nm，蒸馏水调零。

2、操作表

	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
混匀，室温静置 2min				
试剂二 (μL)	50	50	50	50
蒸馏水 (μL)	140	90	90	90
混匀，室温静置 10 min，于微量玻璃比色皿/96 孔板中测定 760nm 处的吸光值。				

注：空白管只测一次。

五、总酚含量计算

1、标准曲线绘制：

以不同浓度的单宁酸为 x 轴， ΔA (A 标准- A 空白) 为 y 轴绘制标准曲线 $y = kx + b$ 。

2、植物总酚含量计算：

将 $\Delta A = A$ 测定- A 对照带入标准曲线，求 x (mg/mL)。

(1) 按样本鲜重计算

总酚含量 (mg/g 鲜重) = $x \times V_{\text{提取}} \div W = 2.5x \div W$

(2) 按样本蛋白浓度计算

总酚含量 (mg/mg prot) = $x \times V_{\text{提取}} \div (V_{\text{提取}} \times C_{\text{pr}}) = x \div C_{\text{pr}}$

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

六、注意事项：

1. OD 值大于 0.8，样品适当稀释再测定，注意计算公式里乘以稀释倍数。

2. 试剂一对皮肤有一定的刺激性，请操作时做好防护措施。