

总酚（TP）含量检测试剂盒说明书

（货号：SH3013 酶标法 96T）

一、产品简介

植物酚类物质（总酚，Total Phenols, TP）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、检测原理

在碱性条件下，酚类物质将福林酚（Folin-Ciocalteu）试剂中的磷钨酸-磷钼酸还原，产生蓝色化合物，在 760 nm 波长处有特征吸收峰。在特定浓度范围内，吸光度值与总酚含量成正比。通过测定 760 nm 处吸光度值，与标准曲线比较，即可计算样品中总酚含量。

三、试剂盒组分与规格

试剂名称	规格	保存条件	备注
提取液	液体 200mL×1 瓶	4℃ 保存	60%乙醇
试剂一	液体 6mL×1 瓶	4℃ 保存	
试剂二	液体 6mL×1 瓶	4℃ 保存	
标准品	粉体×2 支	4℃ 保存	若重新做标曲，则用到该试剂

四、保存条件：4℃ 保存，6 个月有效。

五、所用到的仪器和用品

酶标仪、台式低温离心机、恒温水浴锅、可调式移液器、96 孔板、烘箱、筛子、匀浆器、60%乙醇。

六、总酚（TP）含量测定

正式实验前务必选取 2-3 个预期差异较大的样本做测定，了解本批样本情况，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费！

1、样本制备：

①组织样本：称取约 0.1g 组织（水分充足样本可取 0.5g）；或者称取约 0.03g 烘干样本（将样本在 105℃ 下杀青 3min，然后 60℃ 烘干至恒重，粉碎，过 40-60 目筛，得到烘干样本），加入 1.5mL 60%乙醇（若鲜样需研磨均质），60℃ 振荡提取 2h，在 25℃ 12000g 离心 10min，取上清，用提取液定容至 1.5mL 待测。

【注】若样本量较少，可同比例缩减样本量，如取 0.02g 干样，加入 1mL 的 60%乙醇，60℃ 振荡提取 2h。在 25℃ 12000g 离心 10min，取上清，用提取液定容至 1mL 待测。

②液体样本：澄清的液体可直接检测；若浑浊则离心后取上清液检测。

2、上机检测

①酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 760nm。

②对总酚含量较高的样本如茶叶，一般需要用蒸馏水稀释后再检测如稀释 50 倍，也可先选取 2 个样本做测试，找出适合本次检测样本的稀释倍数 D。

③在 96 孔板中依次加入：

试剂名称 (μL)	测定管	空白管 (仅做一次)
样本	10	
试剂一	50	50
混匀, 25℃室温条件下, 暗处静置 3min		
试剂二	50	50
蒸馏水	90	100
混匀, 25℃室温静置 30min, 于 760nm 处测吸光值, $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}$ 。		

七、结果计算

- 根据标准曲线, 计算 ΔA 对应的标准品没食子酸浓度 C (单位为 mg/mL)。例如本说明书中的标准曲线为 $y = 2.7318x + 0.0066$, 则 $C = (\Delta A - 0.0066) / 2.7318$ 。

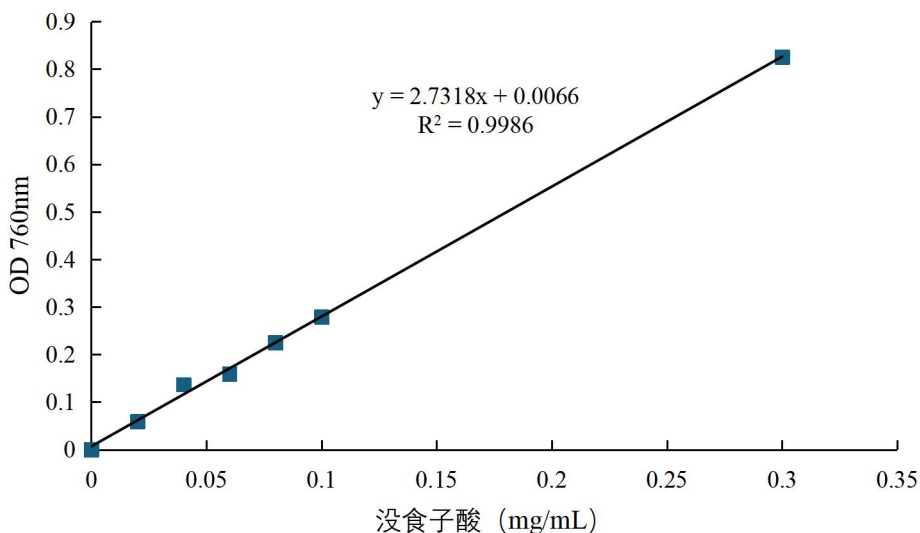


图 1 总酚检测试剂盒的标准曲线效果图, 图中数据仅供参考。

- 总酚含量 (mg/g 重量) = $C \times V1 \div (W \times V1 \div V) \times D$
- 总酚含量 (mg/mL 液体) = $C \times D$
 V ——加入提取液体积, 1.5mL; $V1$ ——加入样本体积, 0.01mL
 D ——稀释倍数, 未稀释即为 1; W ——样本质量, g;

八、标准曲线制作

- 制备标准品母液 (1mg /mL): 标准品溶于 1 mL 提取液 (60%乙醇) 中, 充分混匀, 必要时超声助溶。
- 把母液用提取液稀释成以下浓度梯度的标准品: 0, 0.02, 0.04, 0.06, 0.08, 0.1mg/mL。也可以根据实际样本来调整校准品浓度。
- 依据测定管的加样体系操作, 根据结果即可制作标准曲线。