

总酚含量检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
PYHD7-C24	总酚含量检测试剂盒	24T	常量法
PYHD7-C48		48T	

一、测定意义

酚类物质是植物体中重要的次生物质，对植物生长发育具有一定的调节作用，并且能够清除自由基起到抗氧化的作用，同时具有较高的营养价值和医疗保健作用，在植物抗病、基因的诱导表达和生物固氮等方面具有重要作用，在化妆品、食品和医药等领域具有广泛应用。

二、测定原理

酚类物质在碱性条件下能够将钨钼酸还原生成蓝色化合物，产物在 760 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可定量检测总酚的含量。

三、试剂组成

试剂名称	试剂装量 (24T)	试剂装量 (48T)	保存条件
提取液	液体 30 mL×1 瓶	液体 60 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	液体 20 mL×1 瓶	液体 40 mL×1 瓶	2-8℃避光保存
试剂二	液体 20 mL×1 瓶	液体 40 mL×1 瓶	2-8℃保存
标准品 (5 mg 没食子酸)	粉剂 ×1 瓶	粉剂 ×1 瓶	2-8℃避光保存
	临用前加入 1 mL 蒸馏水，50℃加热促溶，即为 5 mg/mL 没食子酸标准液。		

四、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）

取一定量植物组织擦净水分及杂质，剪碎后放入研钵，加入液氮，研磨成粉状后转移出来，然后准确称重，称取 0.1 g 组织样本于 1mL EP 管中，加入 1 mL 提取液，充分破碎匀浆，60℃超声提取 30 min（密封以防止水分散失），冷却至室温，8000 g 常温离心 10 min，取上清液即为待测样本。

二、测定步骤

- 1、分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 760nm，蒸馏水调零；
- 2、不同浓度标准液配制：使用前将 5 mg/mL 没食子酸标准液使用蒸馏水稀释至 0.2、0.15、0.1、0.05、0.025、0.0125 mg/mL 即为标准稀释液。
- 3、操作表（在 1.5mL 离心管中依次加入下列试剂）

试剂名称	测定管	对照管	标准管	空白管
上清液 (μL)	50	50	-	-
标准液 (μL)	-	-	50	-
蒸馏水 (μL)	-	-	-	50
试剂一 (μL)	250	250	250	250
充分混匀，室温静置 2 min				
试剂二 (μL)	250	250	250	250
蒸馏水 (μL)	450	450	450	450
充分混匀，室温静置 10 min，吸取 1 mL 于 1 mL 玻璃比色皿中，测定 760 nm 处吸光值，记为 A _{测定} 、A _{对照} 、A _{标准} 和 A _{空白} ，计算 $\Delta A_{测定} = A_{测定} - A_{对照}$ ， $\Delta A_{标准} = A_{标准} - A_{空白}$ 。				
注：每个样品均需设一个对照管，标曲和空白管只需测定 1-2 次。				

五、总酚含量的计算：

1、标准曲线的建立：根据标准管的浓度(y, mg/mL)和吸光度 $\Delta A_{标准}$ (x, $\Delta A_{标准}$)，建立标准曲线。根据标准曲线，将 $\Delta A_{测定}$ (x, $\Delta A_{测定}$) 带入公式计算样本浓度(y, mg/mL)。

2、按样本质量计算：

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

3、按样本蛋白浓度计算：

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

W：样品质量，g；V_{提取}：待测样本总体积，1 mL；C_{pr}：样本蛋白浓度，mg/mL。

六、注意事项：

1、若 A_{测定} 或 $\Delta A_{测定}$ 超出标准吸光值线性范围：高于最高值建议将待测样本使用提取液适当稀释后再进行测定；低于最低值建议适当增加样本量重新提取后再进行测定，计算时相应修改；

2、提取液中含有蛋白沉淀组分，样本蛋白浓度测定需使用 PBS 单独提取后再进行测定；

3、为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定。