

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	自备试剂	-
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

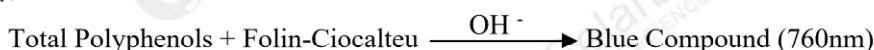
溶液的配制：

- 1、提取液：自备 60%乙醇，大约需要 125mL（75mL 乙醇+50mL 蒸馏水），常温保存；试剂盒内提供一个 30mL 棕色空瓶，仅做分装使用，请自行标注试剂名称。
- 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（为防止挥发，缠封口膜）。12000rpm，25℃，离心 10min，取上清待测。

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：下述实验中每个标准管需 10μL 标准溶液（注意不要在此步骤直接检测标准溶液吸光度）。

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 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$ 。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 $\Delta A_{\text{标准}}$ (y, $\Delta A_{\text{标准}}$)，建立标准曲线。根据标准曲线，将 $\Delta A_{\text{测定}}$ (y, $\Delta A_{\text{测定}}$) 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：

1. 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。
2. 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) = $2.5 \times x \div W = 2.5 \times 0.1476 \div 0.1 = 3.69$ mg/g 质量。

相关发表文献：

[1] Yang R, Chen X, Zhang D, Wang H, Zhou W, Lin W, Qi Z. Steam-Exploded Pruning Waste as Peat Substitute: Physicochemical Properties, Phytotoxicity and Their Implications for Plant Cultivation. *Int J Environ Res Public Health*. 2022 Apr 27;19(9):5328. doi: 10.3390/ijerph19095328. PMID: 35564722; PMCID: PMC9103252.

[2] Lei Y, Wang W, Zhang C, Wang D, Zhuang W, Zheng B, Lo YM, Tian Y. Evaluation of the chemical qualities and microstructural changes of Lentinula edodes caused by airborne ultrasonic treatment combined with microwave vacuum drying. *J Food Sci*. 2021 Mar;86(3):667-676. doi: 10.1111/1750-3841.15593. Epub 2021 Jan 26. PMID: 33496977.

[3] Wu Y, Xu X, Jiang X, Liu S, Lin J, Lin X, Zhang Y, Shi C, Zhao C, Yang J. Application of polysaccharide-rich solution derived from waste macroalgae Enteromorpha prolifera in cherry tomato preservation and utilizing post-extraction residue for crude bio-oil production. *Food Chem*. 2023 May 30;409:135301. doi: 10.1016/j.foodchem.2022.135301. Epub 2022 Dec 24. PMID: 36587516.

[4] Jiao X, Li F, Zhao J, Wei Y, Zhang L, Wang H, Yu W, Li Q. Structural diversity and physicochemical properties of polysaccharides isolated from pumpkin (*Cucurbita moschata*) by different methods. *Food Res Int*. 2023 Jan;163:112157. doi: 10.1016/j.foodres.2022.112157. Epub 2022 Nov 19. PMID: 36596108.

[5] Ren G, Yang P, Cui J, Gao Y, Yin C, Bai Y, Zhao D, Chang J. Multiomics Analyses of Two Sorghum Cultivars Reveal the Molecular Mechanism of Salt Tolerance. *Front Plant Sci*. 2022 May 23;13:886805. doi: 10.3389/fpls.2022.886805. PMID: 35677242; PMCID: PMC9168679.

参考文献：

[1] Maryam Akhbari, Sepideh Hamed, Zahra-sadat Aghamiri. Optimization of total phenol and anthocyanin extraction from the peels of eggplant (*Solanum melongena* L.) and biological activity of the extracts [J]. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 2019, 13(4): 29-37.

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

