

总酚(TP)检测试剂盒说明书

(货号: PB1019W96 微量法 96样)

有效期: 3个月

注意: 正式测定之前选择2-3个预期差异大的样本做预测定。

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。

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。

自备实验用品及仪器:

天平、烘箱、粉碎仪、筛子、超声破碎仪、60%乙醇、离心机、酶标仪、96孔板、蒸馏水。

试剂组成和配制:

提取液: 60%乙醇, 自备。

试剂一: 液体9mL×1瓶, 4℃避光保存。

试剂二: 液体10mL×1瓶, 4℃保存。

总酚提取:

1. 组织: 称取约 0.1g 样本 (水分充足的样本可取 0.5g), 加入2mL 提取液, 匀浆后, 60℃振荡提取2h, 10000g, 25℃, 离心 10min, 取上清待测。

2. 液体样品: 澄清的液体样本可直接检测; 若浑浊可离心后取上清液检测。

测定操作表:

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

2、操作表

	对照管	测定管
样本待测液 (μL)	10	10
试剂一 (μL)		50
混匀, 25℃静置2min		
试剂二 (μL)	50	50
H ₂ O (μL)	140	90
混匀, 25℃静置10 min, 于96孔酶标板中, 测定760nm 吸光值, $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。每个测定管设一个对照管		

总酚含量计算公式:

用微量石英比色皿测定的计算公式如下

标准曲线: $y = 5.615x + 0.0012$, $R^2 = 0.9994$

(1) 按样本鲜重计算



$$\begin{aligned}\text{总酚含量 (mg/g 鲜重)} &= (A - 0.0012) \div 5.615 \div (W \div V \text{ 样总}) \\ &= 0.356 \times (\Delta A - 0.0012) \div W\end{aligned}$$

(2) 按样本蛋白浓度计算

$$\begin{aligned}\text{总酚含量 (mg/mg prot)} &= (A - 0.0012) \div 5.615 \div \text{Cpr} \\ &= 0.178 \times (\Delta A - 0.0012) \div \text{Cpr}\end{aligned}$$

(3) 按液体计算

$$\begin{aligned}\text{总酚含量 (mg/ml)} &= (A - 0.0012) \div 5.615 \\ &= 0.178 \times (\Delta A - 0.0012)\end{aligned}$$

V 样总: 加入提取液体积, 2 mL; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; W: 样品质量, g。

b. 用 96 孔板测定的计算公式如下

标准曲线: $y = 2.8x + 0.0012$, $R^2 = 0.9994$

(1) 按样本鲜重计算

$$\begin{aligned}\text{总酚含量 (mg/g 鲜重)} &= (A - 0.0012) \div 2.8 \div (W \div V \text{ 样总}) \\ &= 0.714 \times (\Delta A - 0.0012) \div W\end{aligned}$$

(2) 按样本蛋白浓度计算

$$\begin{aligned}\text{总酚含量 (mg/prot)} &= (A - 0.0012) \div 2.8 \div \text{Cpr} \\ &= 0.357 \times (\Delta A - 0.0012) \div \text{Cpr}\end{aligned}$$

(3) 按液体计算

$$\begin{aligned}\text{总酚含量 (mg/ml)} &= (A - 0.0012) \div 2.8 \\ &= 0.357 \times (\Delta A - 0.0012)\end{aligned}$$

V 样总: 加入提取液体积, 2 mL; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; W: 样品质量, g。

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。