

总酚（Total Phenols, TP）试剂盒说明书

(货号:ADS-W-KY008-48 微板法 48 样)

一、产品简介:

总酚是一类具有抗氧化和清除自由基功能的活性物质。本试剂盒采用福林酚法测定总酚含量，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，在 760nm 处的读取吸光值，进而计算总酚含量。

二、所需的仪器和用品:

酶标仪、96 孔板、可调式移液器、天平、烘箱、筛子、60%乙醇、离心机。

三、试剂盒组分与配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	液体 2.5mL×1 支	4℃保存	
试剂二	液体 2.5mL×1 支	4℃保存	
标准品	粉体 1 支	4℃保存	若重新做标曲，则用到该试剂

四、总酚（TP）含量的测定:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定，了解本批样品情况，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 新鲜样本(若水分充足，可增加样本取样质量); 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 的 60%乙醇(若鲜样需研磨均质)，60℃振荡提取 2h(若蒸发用 60%乙醇定容至 1.5mL)。25℃×12000rpm，离心 10min，取上清，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。25℃×12000rpm，离心 10min，取上清，用 60%乙醇定容至 1mL 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。

2、上机检测:

① 酶标仪预热 30min，调节波长至 760nm。

② 对于总酚含量较高的样本如茶叶，一般需用蒸馏水稀释后再检测如稀释 50 倍，也可先选取 2 个样本做预测定，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，全部液体转移至 96 孔板中，测定 760nm 吸光值 A， $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}$ 。		

【注】:1.吸光值大于 1，样品适当稀释再测定，计算公式里乘以稀释倍数 D。

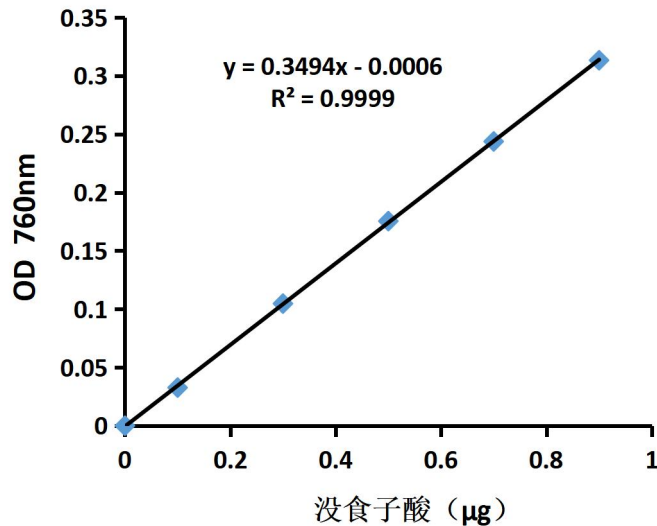
2.若 ΔA 在零附近，可增加样本取样质量 W，或加大样本上样量 V1 (如增至 30μL，则蒸馏水相应减少，

保持总体积不变)，则改变后 W 和 V1 需代入计算公式重新计算。

- 3.若待检测样本有强背景色（如蓝色），需做一个样本自身对照：即试剂一用 50μL 蒸馏水替换，其他步骤同测定管， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。

五、结果计算：

- 1、标准曲线： $y = 0.3494x - 0.0006$ ，x 是标准品质量(μg)，y 是 ΔA 。



- 2、总酚 (TP) 含量(mg/g 干重) = $(\Delta A + 0.0006) \div 0.3494 \times 10^{-3} \div (V1 \div V \times W) \times D$
 $= 0.2862 \times (\Delta A + 0.0006) \times V \div W \times D$
- 3、总酚 (TP) 含量(μg/mL) = $(\Delta A + 0.0006) \div 0.3494 \div V1 \times D$
 $= 286.2 \times (\Delta A + 0.0006) \times D$

V---加入提取液体积；

V1---反应中样品体积，0.01mL；

D---稀释倍数，未稀释即为 1；

W---样品质量，g。

附：标准曲线制作过程：

- 1 制备标准品母液 (10mg/mL)：向标准品 EP 管里面加入 1mL 提取液 (60%乙醇)，超声完全溶解。
- 2 把母液用提取液 (60%乙醇) 稀释成五个浓度梯度的标准品：0, 0.02, 0.04, 0.06, 0.08, 0.1 mg/mL。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
- 3 依据测定管的加样体系操作，根据结果即可制作标准曲线。