

茶多酚(TP)检测试剂盒(酒石酸铁微板法)

产品简介

茶多酚(Tea Polyphenols, TP)是茶叶中多酚类物质的总称,包括黄烷醇类、花色苷类、黄酮类、黄酮醇类和酚酸类等,是一类儿茶素为主体的黄酮化合物,儿茶素占60~80%,具有C₆-C₃-C₆ 碳骨架结构,是一种重要的天然抗氧化物质,能够清除自由基。类物质茶多酚又称茶鞣或茶单宁,是形成茶叶色香味的主要成份之一,也是茶叶中有保健功能的主要成份之一,研究表明茶多酚等活性物质具解毒和抗辐射作用,能有效地阻止放射性物质侵入骨髓,并可使镉 90 和钴 60 迅速排出体外。

茶多酚(TP)检测试剂盒(酒石酸铁微板法)检测原理是以酒石酸铁为底物,利用茶多酚与酒石酸铁反应,生成稳定紫蓝色化合物,以酶标仪 540nm 处测定吸光度,在一定范围内吸光度与颜色深浅的变化成正比,与标准曲线比较进而计算茶多酚含量,主要用于测定植物组织、血清等样品中茶多酚含量,尤其适用于测定茶叶中茶多酚含量。该试剂盒仅用于科研领域,不适用于临床诊断或其他用途。

产品组成

| 名称 \ 编号 | ADS020T00 100T | Storage |
|------------------------|-------------------|---------|
| 试剂(A): 茶多酚标准(1mg/ml) | 1ml | 4°C 避光 |
| 试剂(B): TP Assay Buffer | 15ml | 4°C |
| 试剂(C): TP 显色液 | 5ml | 4°C 避光 |
| 使用说明书 | 1 份 | |

自备材料

- 1、茶叶、绿茶等待测样本、蒸馏水
- 2、研钵、200 目细胞筛、离心管或试管、水浴锅或电炉、离心机、96 孔板、酶标仪

操作步骤(仅供参考)

1、准备样品:

①植物样品:取 0.2g 植物组织,研磨成粉末,加入煮沸的蒸馏水 10ml,沸水浴浸提 20min,用 200 目细胞筛过滤,滤渣再继续置于新的煮沸的 10ml 蒸馏水,相同操作提取一次,合并两次滤液,5000r/min 离心 15min,取上清液,即为茶多酚提取液,4°C 避光保存,用于茶多酚的检测;绿茶等液体样本可直接用该试剂盒测定。

②血浆、血清和尿液样品:血浆、血清按照常规方法制备后可直接用本试剂盒测定。

③细胞或组织样品:取恰当细胞或组织裂解液,如有必要可用蒸馏水进行适当匀浆,

5000r/min 离心 15min, 取上清液, 即为茶多酚提取液, 4℃避光保存。

④高浓度样品: 如果样品中含有较浓度的茶多酚, 可以使用蒸馏水进行适当稀释。

2、配制系列茶多酚标准: 用蒸馏水和茶多酚标准(1mg/ml), 按下表进行操作, 依次稀释。

| | | | | | | |
|-----------------|----|----|-----|-----|-----|-----|
| 加入物(μl) | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| 茶多酚标准(1mg/ml) | 2 | 5 | 10 | 30 | 50 | 80 |
| 蒸馏水 | 98 | 95 | 90 | 70 | 50 | 20 |
| 相当于茶多酚含量(μg/ml) | 20 | 50 | 100 | 300 | 500 | 800 |

3、TP 加样: 取 96 孔板, 按照下表设置空白孔、对照孔、测定孔, 溶液应按照顺序依次加入, 并注意避免产生气泡; 如果样品中的 TP 浓度过高, 可以减少样品用量或适当稀释后再进行测定, 样品的检测最好能设置 2 平行孔, 求平均值。

| 加入物(μl) | 空白孔 | 标准孔 | 测定孔 |
|-----------------|-----|-----|-----|
| 蒸馏水 | 50 | 25 | 25 |
| 系列茶多酚标准(1~6 号) | — | 25 | — |
| 待测样品 | — | — | 25 |
| TP 显色液 | 50 | 50 | 50 |
| TP Assay Buffer | 150 | 150 | 150 |

4、TP 测定: 以空白调零, 酶标仪测定 540nm 处标准孔、测定孔的吸光度。

计算

以系列茶多酚标准浓度(1~6 号)(20、50、100、300、500、800μg/ml)为横坐标, 以对应的吸光度为纵坐标, 绘制标准曲线, 求得回归方程。以测定管吸光度代入回归方程求得提取液中 TP 含量。

$$\text{组织样本 TP 含量}(\mu\text{g/g}) = (C \times V_T) / (W \times V_S)$$

式中: C=根据标准曲线求得提取液中茶多酚含量(μg/ml)

V_T =提取液的总体积(ml)

W=组织样本的重量(g)

V_S =测定时所用提取液的体积(ml)

$$\text{液体样本 TP 含量}(\mu\text{g/ml}) = (C \times V_T) / V_S$$

式中: C=根据标准曲线求得提取液中茶多酚含量(μg/ml)

V_T =提取液的总体积(ml)

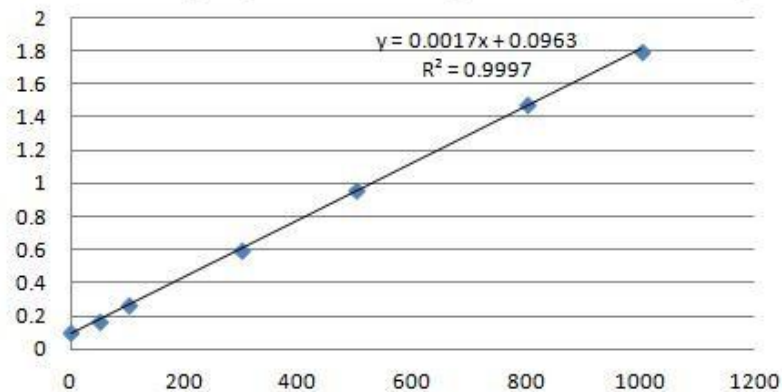
V_S =测定时所用提取液的体积(ml)

注意事项

- 1、提取茶多酚时，注意提前煮沸蒸馏水，以便充分提取，提取液宜 4℃避光保存。
- 2、提取时间过长，茶多酚会发生氧化反应，导致测定结果不准确，建议 2h 内测定完成。
- 3、如果没有分光光度计，也可以使用普通的酶标仪测定，但应注意酶标仪最大检测体积。
- 4、每次检测指标不宜过多，否则操作时间不一，有可能导致样本间的差异。
- 5、TP 显色液容易失效，建议 4℃避光保存。
- 6、采用分光光度计未调零情况下，空白参考值为0.102, 100μg/ml 参考值为0.265，一般情况下浓度在 200~600μg/ml 时测定结果更准确；由于仪器设备、操作方法等不同，参考值会有差异。
- 7、该试剂盒测定范围为 10~1200μg/ml；以肉眼观察，浓度小于 100μg/ml 几乎呈无色，浓度大于 100μg/ml 即可显淡紫蓝色，300μg/ml 呈明显的紫蓝色。
- 8、试剂开封后请尽快使用，以防影响后续实验效果。

附录：参考标准曲线范围：测定茶多酚标准在 50、100、300、500、800、1000μg/ml 时的吸光度，据此作出其参考标准曲线如下：

茶多酚(TP)检测试剂盒(酒石酸铁比色法)



注意：由于检测仪器和操作手法等条件的不同，参考值范围会有波动，该值仅供参考，对于要求精确计算 TP 含量的，可以采用标准曲线进行多点测定。

有效期：6个月；低温运输，4℃保存。