

# 植物总酚检测试剂盒

(货号: BC162 分光光度法 50T/24 样)

## 一、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。

## 二、仪器设备 (自备):

烘箱、粉碎仪、40目筛、超声破碎仪、研钵、离心机、可见分光光度计、1mL玻璃比色皿

## 三、试剂组成: (试剂盒有效期 3 个月)

**提取液:** 60%乙醇水溶液, 自备;

**试剂一:** 黄色液体8mL×1 瓶, 4°C保存;

**试剂二:** 无色液体15mL×1 瓶, 4°C保存;

**试剂三:** 2000 $\mu$ mol/L标准品1mL×1 瓶, 无色液体, 4°C保存; **500 $\mu$ mol/L标准品配置:** 取2000 $\mu$ mol/L标准品按1:3的比例 (V:V) 加入3倍体积的60%乙醇水溶液配置, 现用现配。

## 四、操作步骤:

### 1、总酚提取:

**干样提取:** 将样本烘干至恒重, 粉碎, 过40目筛之后, 称取约0.1g, 加入2mL提取液, 用超声提取法进行提取, 超声功率300W, 破碎5秒, 间歇8秒, 60°C提取30min。4000转/min离心10min, 取上清液待测。

**鲜样提取:** 将新鲜或冷冻保存的植物鲜样, 用液氮研磨成粉, 在带盖离心管中称取植物粉末约0.1g, 加入2mL提取液, 盖紧, 漩涡混匀抽提2~3分钟后, 置于60°C提取30min, 4000转/min离心10min, 取上清液待测。

**注:** 上清液在测试前需取一个正常组的样本上清和一个预期差异较大的样本上清进行预试以确定最佳取样浓度 (测定管OD-对照管OD $\leq$ 0.9)。

### 2、测定操作表:

	空白管	标准管	测定管	对照管
60%乙醇水溶液 ( $\mu$ L)	50			
500 $\mu$ mol/L标准品 ( $\mu$ L)		50		
样本上清液 ( $\mu$ L)			50	50
试剂一 ( $\mu$ L)	250	250	250	
混匀, 室温静置2min				
试剂二 ( $\mu$ L)	250	250	250	250
蒸馏水 ( $\mu$ L)	450	450	450	700
混匀, 室温静置10 min, 蒸馏水调零, 波长760nm, 1mL比色皿, 测定各管吸光度值A。				

**注:** 对照管需每个样本都做以减小误差。

## 五、计算公式:

$$\text{植物总酚含量} \left( \frac{\mu\text{mol}}{\text{g组织}} \right) = \frac{A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}}{A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}} \times C_{\text{标准}} \times V_{\text{样总}} \times N \div W$$

$C_{\text{标准}}$ :标准品浓度, 500 $\mu\text{mol/L}$ ;

$V_{\text{样总}}$ :上清液总体积,0.002L;

$N$ :上清液稀释倍数;

$W$ :样本质量,g。

#### 六、计算举例：

取冻存植物叶片，按照鲜样提取步骤处理后，所得上清再稀释 3 倍后，按实验步骤操作，测得空白管 OD 值为 0.001，标准管 OD 值为 0.502，测定管 OD 值为 0.461，对照管 OD 值为 0.000，则结果为：

$$\begin{aligned} \text{植物总酚含量} \left( \frac{\mu\text{mol}}{\text{g组织}} \right) &= \frac{0.461 - 0.000}{0.502 - 0.000} \times 500 \times 0.002 \times 3 \div 0.102 \\ &= 27.06 \mu\text{mol} / \text{g组织} \end{aligned}$$

#### 七、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。

#### 八、注意事项：

- 1、试剂一对皮肤有一定的刺激性，操作时做好防护措施。
- 2、本实验可自行制作标准曲线计算，也可按照操作表操作后按计算公式计算，不影响结果。
- 3、样本根据客户自己要求烘干或用鲜样都可，结果单位用 $\mu\text{g/g}$ 组织表示时应乘以相应植物总酚平均分子质量。
- 4、室温25 $^{\circ}\text{C}$ 时，可直接在室内条件下反应。
- 5、反应时尽量避免强光照射。
- 6、本试剂盒仅用于科研。

## 附录：植物总酚标准曲线制备

### 一、实验前准备：

将2000 $\mu\text{mol/L}$  (300mg/L) 标准品用60%乙醇水溶液稀释成1000 $\mu\text{mol/L}$ 、500 $\mu\text{mol/L}$ 、250 $\mu\text{mol/L}$ 、125 $\mu\text{mol/L}$ 几个浓度。

### 二、操作步骤：

	空白管	标准管
60%乙醇水溶液 ( $\mu\text{L}$ )	50	
不同浓度标准品 ( $\mu\text{L}$ )		50
试剂一 ( $\mu\text{L}$ )	250	250
混匀，室温静置2min		
试剂二 ( $\mu\text{L}$ )	250	250
蒸馏水 ( $\mu\text{L}$ )	450	450
混匀，室温静置10 min，蒸馏水调零，波长760nm，1mL比色皿，测定各管吸光度值。		

### 三、实验数据：

标准浓度 ( $\mu\text{mol/L}$ )	0	125	250	500	1000
标准 OD 值	0.006	0.135	0.251	0.462	0.924
绝对 OD 值	0	0.129	0.245	0.456	0.918

### 四、作图如下：

