

植物总酚（Total Phenols, TP）试剂盒说明书

微量法 100T/48S

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、可见分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/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 3mL×1 瓶，4℃保存。

试剂二：液体 5mL×1 瓶，4℃保存。

总酚提取：

将样本烘干至恒重，粉碎，过 40 目筛之后，称取约 0.1g，加入 2.5mL 提取液，用超声提取法进行提取，超声功率 300W，破碎 5s，间歇 8s，60℃，提取 30min。10000g，25℃，离心 10min，取上清，用提取液定容至 2.5mL，待测。

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，于微量石英比色皿/96 孔板中，测定 760nm 吸光值， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。		

总酚含量计算公式：

a. 用微量石英比色皿测定的计算公式如下

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

$$\begin{aligned} \text{总酚含量 (mg/g)} &= (\Delta A - 0.0012) \div 5.615 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \\ &= 8.93 \times (\Delta A - 0.0012) \div W \end{aligned}$$

V 样总：加入提取液体积，2.5 mL； V 反总：反应总体积，0.2mL； V 样：反应中样品体积，0.01mL； W：样品质量，g。

b. 用 96 孔板测定的计算公式如下

标准曲线： $y = 2.808x + 0.0012$ ， $R^2 = 0.9994$

$$\begin{aligned} \text{总酚含量 (mg/g)} &= (\Delta A - 0.0012) \div 2.808 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \\ &= 17.86 \times (\Delta A - 0.0012) \div W \end{aligned}$$

V 样总：加入提取液体积，2.5 mL； V 反总：反应总体积，0.2mL； V 样：反应中样品体积，

0.01mL; W: 样品质量, g。

注意事项:

1. 吸光值大于 2, 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。
3. 最低检出限为 2.4 μ g/g。