

## 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、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 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 2mL 提取液，60℃ 振荡提取 2h。10000g，25℃，离心 10min，取上清，用提取液定容至 2mL，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 <sub>2</sub> 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：**

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

总酚含量 (mg/g 干重) =  $(\Delta A - 0.0012) \div 2.808 \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W)$   
 $= 0.712 \times (\Delta A - 0.0012) \div W$

$V_{\text{样总}}$ ：加入提取液体积，2mL； $V_{\text{样}}$ ：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 μg/g。