

总酚含量检测试剂盒使用说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
PYHD7-C24	总酚含量检测试剂盒	24T	常量法
PYHD7-C48		48T	

一、测定意义：

酚类物质是植物体中重要的次生物质，对植物生长发育具有一定的调节作用，并且能够清除自由基起到抗氧化的作用，同时具有较高的营养价值和医疗保健作用，在植物抗病、基因的诱导表达和生物固氮等方面具有重要作用，在化妆品、食品和医药等领域具有广泛应用。

二、测定原理：

酚类物质在碱性条件下能够将钨钼酸还原生成蓝色化合物，产物在760 nm处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可定量检测总酚的含量。

三、试剂组成：

试剂名称	试剂装量(24T)	试剂装量(48T)	保存条件
提取液	液体 30mL×1瓶	液体 60mL×1瓶	2-8℃保存
试剂一	液体 20mL×1瓶	液体 40mL×1瓶	2-8℃避光保存
试剂二	液体 20mL×1瓶	液体 40mL×1瓶	2-8℃保存
标准品 (5 mg)	粉剂 ×1 瓶	粉剂 ×1 瓶	2-8℃避光保存

标准品的配制：临用前加入1 mL蒸馏水，50℃加热促溶，即为5 mg/mL没食子酸标准液。

四、操作步骤：

样本前处理

取一定量植物组织擦净水分及杂质，剪碎后放入研钵，加入液氮，研磨成粉状后转移出来，然后准确称重，按照组织质量(g)：提取液体积(mL)为1:5~10的比例(建议称取约0.1g组织，加入1mL提取液)充分破碎匀浆，60℃超声提取30 min(密封以防止水分散失)，冷却至室温，8000g，4℃离心10min，取上清，置冰上待测。

失)，冷却至室温，8000g，4℃离心10min，取上清，置冰上待测。

测定步骤

- 分光光度计预热30min以上，调节波长至760nm，蒸馏水调零。
- 不同浓度标准液配制：使用前将5 mg/mL没食子酸标准液使用蒸馏水稀释至0.2、0.15、0.1、0.05、0.025、0.0125 mg/mL即为标准稀释液；

3、样本测定（离心管中依次加入下列试剂）：

试剂名称	测定管	对照管	标准管	空白管
上清液(μL)	50	50	-	-
不同浓度标准液(μL)	-	-	50	-
蒸馏水(μL)	-	-	-	50
试剂一(μL)	250	250	250	250
充分混匀，室温静置2 min				
试剂二(μL)	250	250	250	250
蒸馏水(μL)	450	450	450	450

充分混匀，室温静置10 min，吸取1 mL于1 mL玻璃比色皿中，测定760 nm处吸光值，记为A_{测定}、A_{对照}、A_{标准}和A_{空白}，计算ΔA_{测定}=A_{测定}-A_{对照}，ΔA_{标准}=A_{标准}-A_{空白}。注：每个样品均需设一个对照管，标曲和空白管只需测定1-2次。

五、总酚含量测定：

- 标准曲线的建立：根据标准管的浓度(y, mg/mL)和吸光度ΔA_{标准}(x, ΔA_{标准})，建立标准曲线。根据标准曲线，将ΔA_{测定}(x, ΔA_{测定})带入公式计算样本浓度(y, mg/mL)。

2、按样本质量计算：

$$\text{总酚含量}(\text{mg/g}) = y \times V_{\text{提取}} \div W = y \div W$$

3、按样本蛋白浓度计算：

$$\text{总酚含量}(\text{mg/mg prot}) = y \times V_{\text{提取}} \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{提取}}) = y \div C_{\text{pr}}$$

W：样品质量，g；V_{提取}：待测样本总体积，1 mL；C_{pr}：样本蛋白浓度，mg/mL。

六、注意事项：

1、若 A 测定或 ΔA 测定超出标准吸光值线性范围：高于最高值建议

将待测样本使用提取液适当稀释后再进行测定；低于最低值建议适当增加样本量重新提取后再进行测定，计算时相应修改；

2、提取液中含有蛋白沉淀组分，样本蛋白浓度测定需使用 PBS 单独提取后再进行测定；

3、为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定。

【厂家信息】

生产企业：南京陌凡生物科技有限公司

地址：南京市栖霞区红枫科技园 A6 栋 2 层

【售后微信】**【说明书核准及修改日期】**

核准日期：2025 年 4 月 7 日

修改日期：2025 年 4 月 7 日