

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-M48	总酚含量检测试剂盒	48T	微量法
PYHD7-M96		96T	

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(48T)	试剂装量(96T)	保存条件
提取液	液体 60mL×1瓶	液体 110mL×1瓶	2-8℃保存
试剂一	液体 6mL×1瓶	液体 12mL×1瓶	2-8℃避光保存
试剂二	液体 6mL×1瓶	液体 12mL×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。

测定步骤

- 1、酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 760nm，蒸馏水调零。
- 2、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 备用；
- 3、样本测定（在 96 孔板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）	10	10	-	-
不同浓度标准液（μL）	-	-	10	-
蒸馏水（μL）	-	-	-	10
试剂一（μL）	50	50	50	50
充分混匀，室温静置 2 min				
试剂二（μL）	50	50	50	50
蒸馏水（μL）	90	90	90	90
充分混匀，室温静置 10 min，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 $\Delta A_{测定} = A_{测定} - A_{对照}$ ， $\Delta A_{标准} = A_{标准} - A_{空白}$ 。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：

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

2、按样本质量计算：

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

3、按样本蛋白浓度计算：

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

W：样品质量，g；V_{提取}：待测样本总体积，1 mL；Cpr：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