

总多酚含量试剂盒 96 样

规格：微量法 96 样

检测波长：778nm

编号：ml300887

检测原理：福林酚法

注 意：正式测定前务必取 3 - 5 个预期差异较大的样本做预测定

测定意义：

多酚(Polyphenol, or Phenolic compounds), 是一类在植物体内普遍存在的多元酚结构的次生代谢物, 广泛存在于药用植物、蔬菜和水果中。植物多酚的主要类型包括简单的酚酸(如没食子酸和香草酸)、黄酮类(如黄酮、黄酮醇、儿茶素)、类二苯乙烯、木酚素和聚合多酚类物质(如原花青素和单宁酸)。这些化合物在植物抵御紫外线辐射中起着重要作用, 对食草动物和微生物起到威慑或拮抗作用, 在植物生长、成熟等过程中也起着信号分子的作用。大量研究表明, 很多酚类化合物具有抗氧化、抗微生物、抗癌、抗炎等多种作用, 可用于预防心血管疾病、癌症、糖尿病以及与氧化应激有关的疾病。多酚广泛存在于植物中, 检测其含量有助于更好地利用植物资源, 同时可以进一步探索其在医药、保健等领域的应用潜力。

测定原理：

多酚分子中的酚羟基 (-OH) 在福林酚试剂的作用下被氧化生成蓝色化合物, 产物在 778nm 处具有特征吸收峰, 通过吸光值变化即可定量检测茶多酚的含量。没食子酸当量(Gallic acid equivalent, GAE)是一种用于量化样品中多酚含量的标准方法, 即以没食子酸作为标准品, 通过比较其含量来计算其它多酚的含量。

自备仪器和用品：

酶标仪、水浴锅、可调式移液器、96 孔板、50 目筛、研钵、烘箱、蒸馏水、超声清洗机、台式离心机。

试剂清单：

试剂名称	规格	数目	贮藏
提取液	液体 120mL	x1	4℃
试剂一	液体 8mL	x1	4℃,避光
试剂二	液体 8mL	x1	4℃
标准品	粉剂	x1	4℃,避光

样品提取（按照步骤依次操作）：

一、组织样本

将样本烘干至恒重，充分研磨后过 50 目筛；称取 50 mg 研磨后样本，加入提取液 1 mL，充分混匀，60℃超声提取 30 min，12000 g 常温离心 10 min，取上清至冰上待测。

注：固定体积的提取液对于酚类的提取通常会有最大酚类含量的饱和度问题。提取液中多酚的含量达到饱和后，可能无法继续充分有效的提取。因此对于酚类含量较高样品的提取需要适当调整提取液的使用比例，例如加大提取液用量或适当减少样品的量。

二、液体样本

澄清液体样品可以直接测定或使用蒸馏水适当稀释后再进行测定。

实验准备：

- 1、酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 778nm；
- 2、调节水浴锅至 40℃；

测定操作：

试剂名称 (μL)	测定管	空白管 (只做一管)
样本	22	-
试剂一	55	55
试剂二	55	55
蒸馏水	88	110

混匀，40℃水浴 60min，静置冷却 20min，取 200μL 于 778nm 处测定吸光值，

$\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}$

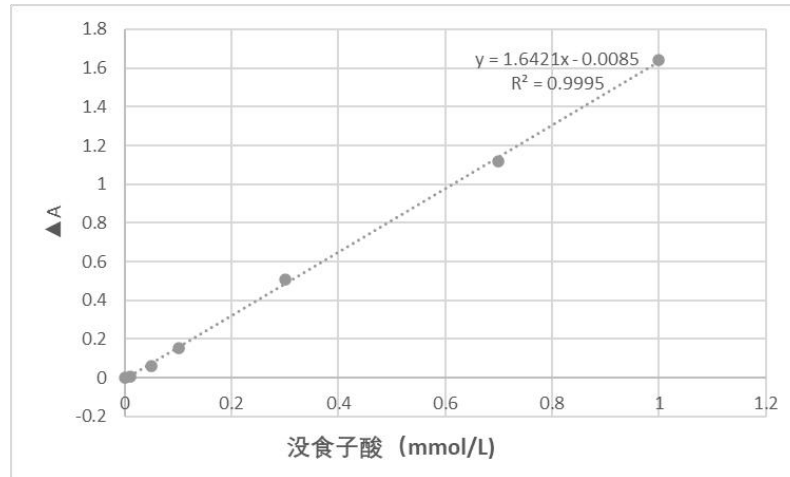
注意:

- 1、建议吸光值在 0.1-2，如果 ΔA 大于 2，需要将待测液用蒸馏水稀释，计算公式中乘以相应稀释倍数；如果 ΔA 小于 0.1 则提高样本浓度。

结果计算:

标准条件下测定的回归方程为 $y = 1.6421x - 0.0085$, $R^2 = 0.9995$;

x 为标准品浓度 (mmol/L), y 为吸光值 ΔA 。



1.按样本重量计算:

$$\text{总糖(mg GAE/g)} = (\Delta A + 0.0085) \div 1.6421 \times V_{\text{提}} \times 170.12 \div W \times D$$

2. 按照液体体积计算:

$$\text{总糖(mg GAE /mL)} = (\Delta A + 0.0085) \div 1.6421 \times V_{\text{提}} \times 170.12 \div V_{\text{样}} \times D$$

V 提: 加入提取液体积, 0.001L;

W:样本重量, 0.05g

170.12: 1mmol 没食子酸重量为 170.12mg

V 样: 液体样本体积, mL。

附：标准曲线制作过程

- 1.制备标准品母液 (10mmol/L): 从标准品管中称量取出 3.4024mg 至一新 2mLEP 管中, 再加 2mL 蒸馏水混匀溶解即得 10mmol/L 没食子酸。(现用现配, 不可保存)
- 2.把母液用蒸馏水稀释成以下浓度梯度的标准品: 0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8mmol/L 也可根据实际样本来调整标准品浓度。(现用现配, 不可保存)
- 3.依据加样表操作, 根据结果即可制作标准曲线,x 轴为标准品浓度 (mmol/L), y 轴为吸光值 ΔA 。

试剂名称 (μL)	标准管	空白管 (只做一管)
标准品	22	-
试剂一	55	55
试剂二	55	55
蒸馏水	88	110
混匀, 40°C水浴 60min, 静置冷却 20min, 取 200 μL 于 778nm 处测定吸光值, $\Delta A = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$ 。		

预实验的意义:

比色法检测试剂盒预实验非常重要

- 1、确定该试剂盒是否适合客户的样本检测, 以免造成试剂盒和样本的浪费 (比如低表达处理的样本);
- 2、熟悉生化试剂盒的操作流程, 尤其是初次使用生化试剂盒测定;
- 3、确定样本的处理方法及稀释倍数是否合适;
- 4、了解实验过程中可能出现的实验现象或问题, 以便于及时作出调整;
- 5、通过 3 - 5 组预实验, 判断试剂盒对于样本的最佳适应稀释浓度范围, 指导实验样本稀释比例。