

总酚（Total Phenols, TP）试剂盒说明书

（分光法 48 样）

一、产品简介：

总酚是一类具有抗氧化和清除自由基功能的活性物质。本试剂盒采用福林酚法测定总酚含量，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，在 760nm 处的读取吸光值，进而计算总酚含量。

二、所需的仪器和用品：

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿（光径 1cm）、可调式移液器、天平、烘箱、筛子、60%乙醇、离心机。

三、试剂盒组分与配制：

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	液体 12mL×1 瓶	4°C保存	
试剂二	液体 12mL×1 瓶	4°C保存	
标准品	粉体 mg×1 支	4°C保存	若重新做标曲，则用到该试剂

四、总酚（TP）含量的测定：

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定，了解本批样品情况，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费！

1、样本制备：

① 组织样本：

称取约 0.1g 新鲜样本(若水分充足，可增加样本取样质量)；或者称取约 0.03g 烘干样本（将样本在 105°C下杀青 3min，然后 60°C烘干至恒重，粉碎，过 40-60 目筛，得到烘干样本），加入 1.5mL 的 60%乙醇（若鲜样需研磨均质），60°C振荡提取 2h（若蒸发用 60%乙醇定容至 1.5mL）。25°C×12000rpm，离心 10min，取上清，待测。

【注】：若样本量较少，可同比例缩减样本量，如取 0.02g 干样，加入 1mL60%乙醇，60°C振荡提取 2h。25°C×12000rpm，离心 10min，取上清，用 60%乙醇定容至 1mL 待测。

② 液体样品：

澄清的液体样本可直接检测；若浑浊可离心后取上清液检测。

2、上机检测：

① 可见分光光度计预热 30min，调节波长至 760nm，蒸馏水调零。

② 对于总酚含量较高的样本如茶叶，一般需用蒸馏水稀释后再检测如稀释 50 倍，也可先选取 2 个样本做预测定，找出适合本次检测样本的稀释倍数 D。

③ 在 EP 管中依次加入：

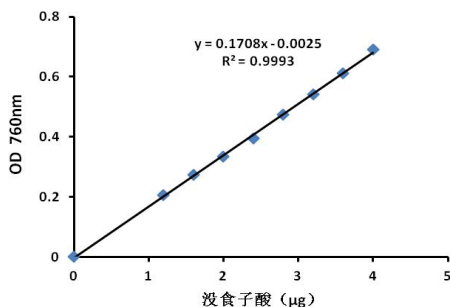
试剂名称 (μL)	测定管	空白管（仅做一次）
样本	40	
试剂一	200	200
混匀，25°C室温条件下，暗处静置 3min		
试剂二	200	200
蒸馏水	360	400
混匀，25°C室温静置 30min，全部液体转移至 1mL 玻璃比色皿中，测定 760nm 吸光值 A， $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}$ 。		

【注】：1.吸光值大于 1，样品适当稀释再测定，计算公式里乘以稀释倍数 D。

- 2.若 ΔA 在零附近,可增加样本取样质量 W ,或加大样本上样量 V_1 (如增至 $30\mu\text{L}$,则蒸馏水相应减少,保持总体积不变),则改变后 W 和 V_1 需代入计算公式重新计算。
- 3.若待检测样本有强背景色(如蓝色),需做一个样本自身对照:即试剂一用 $200\mu\text{L}$ 蒸馏水替换,其他步骤同测定管, $\Delta A=A$ 测定- A 对照。

五、结果计算:

1、标准曲线: $y = 0.1708x - 0.0025$, x 是标准品质量(μg), y 是 ΔA 。



2、总酚 (TP) 含量(mg/g 干重) $= (\Delta A + 0.0025) \div 0.1708 \times 10^{-3} \div (V_1 \div V \times W) \times D$
 $= 0.1464 \times (\Delta A + 0.0025) \times V \div W \times D$

3、总酚 (TP) 含量($\mu\text{g/mL}$) $= (\Delta A + 0.0025) \div 0.1708 \div V_1 \times D$
 $= 146.4 \times (\Delta A + 0.0025) \times D$

V ---加入提取液体积;

V_1 ---反应中样品体积, 0.04mL ;

D ---稀释倍数, 未稀释即为 1;

W ---样品质量, g 。

附: 标准曲线制作过程:

- 1 制备标准品母液 (10mg/mL): 向标准品 EP 管里面加入 1mL 提取液 (60%乙醇), 超声完全溶解。
- 2 把母液用提取液(60%乙醇)稀释成五个浓度梯度的标准品: $0, 0.02, 0.04, 0.06, 0.08, 0.1 \text{mg/mL}$ 。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
- 3 依据测定管的加样体系操作, 根据结果即可制作标准曲线。