

总多酚含量测试试剂盒

(C001-96T 分光光度计法)

一、测定原理

福林酚试剂氧化多酚中-OH 基团并使其显蓝色，蓝色的深浅与多酚的含量成正相关，没食子酸一般在该方法中被默认为标准物质，采用没食子酸溶液制作标准曲线，然后将多酚含量表示为等价没食子酸的量，即可求得待测样品中总多酚含量。

二、试剂组成

试剂一：酚试剂 25mL×1 瓶

试剂二：显色液 200mL ×1 瓶

试剂三：1.0mg/mL 没食子酸标准溶液 20mL×1 瓶

三、储存条件及有效期

试剂一、试剂二 4℃保存，试剂三-20℃保存，可保存 3 个月。

四、试剂的配制

试剂一应用液：将试剂用双蒸水 10×稀释，制备成酚应用液，每次测试需使用 2.5mL，根据样品数量计算好，用多少配制多少。

例：需要进行 38 次测试，则可配制 40 次使用量： $40 \times 2.5\text{mL} = 100\text{mL}$ ，量取 10mL 试剂一加入 90mL 双蒸水，充分混匀即可。

试剂三应用液：

分别采用移液管移取 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0mL 试剂三于 100mL 容量瓶中，采用双蒸水定容至刻度，摇匀，制成浓度分别为 10, 20, 30, 40, 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的没食子酸应用液。

习惯上使用移液器的老师也可先在 15mL 离心管中分别加入 9.9, 9.8, 9.7, 9.6, 9.5mL 双蒸水，再采用移液器分别移取 100, 200, 300, 400, 500 μL 试剂三于相应的离心管中，充分颠倒混匀，制成浓度分别为 10, 20, 30, 40, 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的没食子酸应用液。

五、操作步骤

	标准管 ¹	测定管
试剂一应用液 (mL)	2.5	2.5

样品溶液 (mL)		0.5
试剂三应用液 (mL)	0.5	

充分混匀，室温静置 5min 使之充分反应²。

试剂二 (mL) ³	2	2
-----------------------	---	---

充分混匀，室温静置 60min⁴，使用 1cm 光径比色皿，765nm 处采用分光光度计测定吸光度。

¹必须做标准管，以绘制标准曲线；

²3-8 分钟均可，但标准管和所有测定管反应时间应保持一致；

³如样品颜色较深，可做对照管，对照管将试剂二改为双蒸水；

⁴最短 40min，建议 60min 以保证反应充分。

六、计算方法

1. 绘制标准曲线

以没食子酸应用液浓度 0, 10, 20, 30, 40, 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 为横坐标，以分光光度计测得的吸光值为纵坐标，在坐标纸上或利用 EXCEL 绘制标准曲线。

2. 计算样品浓度

对于坐标纸上绘制的标准曲线，请直接根据坐标求得样品浓度。

对于采用 EXCEL 计算的，根据方程求得样品浓度。

样品浓度表示为 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 没食子酸，或 $\mu\text{g}/\text{mL}$ gallic acid equivalent (GAE)。也可根据测试溶液浓度计算出样品粉末中含量，表示为 mg/g GAE。

七、注意事项

1. 一些植物提取物中多酚含量很高，建议首先摸索稀释倍数，若测定数值超出标准曲线线性范围，则不可采纳该读数。应将样品稀释后重新测定；
2. 各管反应时间尽量保持一致，因此不建议一次性测试过多样品；
3. 试剂三应用液应现配现用，不可久放。

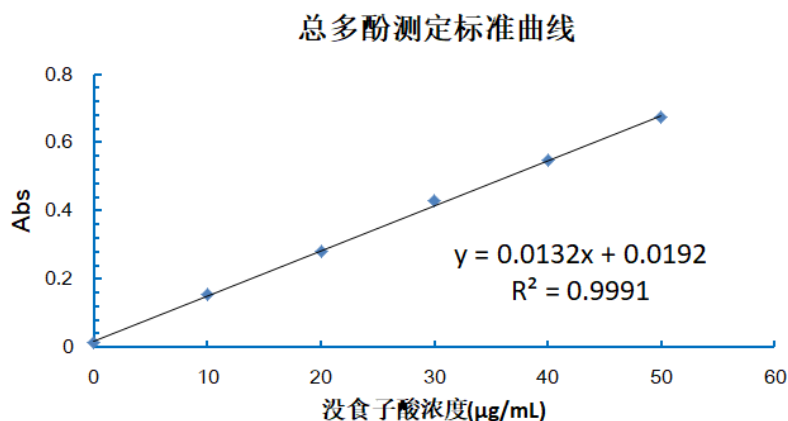
八、应用举例

小明提取得到了一种中草药的粗提物，并将其冻干得到粉末，配制成 5 mg/mL 的溶液，分析其总多酚含量。

小明预估自己的样品中多酚含量较高，于是将样品 10×，100×，500× 稀释，分别得到 500μg/mL，50μg/mL，10μg/mL 的样品，并标记为 1，2，3 号样品。然后小明按照说明书提示进行总多酚含量的测试，测试结果如下：

样品名称	样品浓度	吸光值			
		重复 1	重复 2	重复 3	平均值
标准品	0	0.012	0.016	0.012	0.013
	10	0.15	0.158	0.157	0.155
	20	0.273	0.284	0.282	0.280
	30	0.428	0.427	0.432	0.429
	40	0.545	0.548	0.546	0.546
	50	0.677	0.670	0.673	0.673
样品 3		0.048	0.043	0.045	0.048
样品 2		0.148	0.152	0.148	0.148
样品 1		1.028	1.045	1.053	1.028

小明根据标准品测试结果，采用 EXCEL 作图，得到标准曲线如下：



计算出的相关系数 > 0.999，小明认为该标准曲线可用。于是小明利用该标准曲线计算自己样品的多酚浓度，得到结果如下：

样品 3: 1.980μg/mL

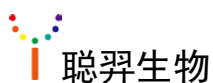
样品 2: 9.859μg/mL

样品 1: 77.485μg/mL

因为样品 1 的平均吸光值 1.028 大于标准曲线中的最大吸光值 0.673，认为不在线性范围，舍弃；样品 2、3 的平均吸光值 0.148，0.048 均在标准曲线线性范围内，且样品 2、3

的浓度差异约为 5 倍，认为其浓度是可信的，但相比较而言，样品 3 的吸光值偏小，误差相对较大，因此小明决定采用样品 2 的数据计算样品的总多酚含量。

即：50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 中草药粗提物样品中，多酚含量为 9.859 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 等价没食子酸，经换算，小明得知，该中草药粗提物冻干样中多酚含量为： $9.859 \div 50 \times 1000 \text{mg}/\text{g} = 197.180 \text{mg}/\text{g}$ 等价没食子酸，或表示为 197.180 mg/g GAE。



上海琮益科技有限公司

官方网站：www.congyibio.com

技术支持：info@congyi-tech.com



图形及“聪羿生物®”均为上海琮益科技有限公司注册商标。