

总多酚含量测试试剂盒

(C001-96T 酶标板法)

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 1mL×1 瓶

试剂二：显色液 10mL ×1 瓶

试剂三：1.0mg/mL 没食子酸标准溶液 500μL×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：试剂一加入 9mL 双蒸水配制成 10mL 试剂一应用液。

试剂三应用液：

移取 200μL 试剂三，加入 1800μL 双蒸水，摇匀，制成浓度分别为 100μg/mL 的稀释液，分别移取 100, 200, 300, 400, 500μL 稀释液，加入 900, 800, 700, 600, 500μL 双蒸水，配置成 10, 20, 30, 40, 50μg/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 (μL)	100	100
样品溶液 (μL)		20
试剂三应用液 (μL)	20	

充分混匀，室温静置 5min 使之充分反应²。

试剂二 (μL) ³	80	80
-----------------------	----	----

充分混匀，室温静置 60min⁴，765nm 处采用酶标仪测定吸光度。

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 $\mu\text{g/mL}$ 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，通过 EXCEL 计算的可得到一个一元一次方程。

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 $\mu\text{g/mL}$ 没食子酸，或 $\mu\text{g/mL}$ 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

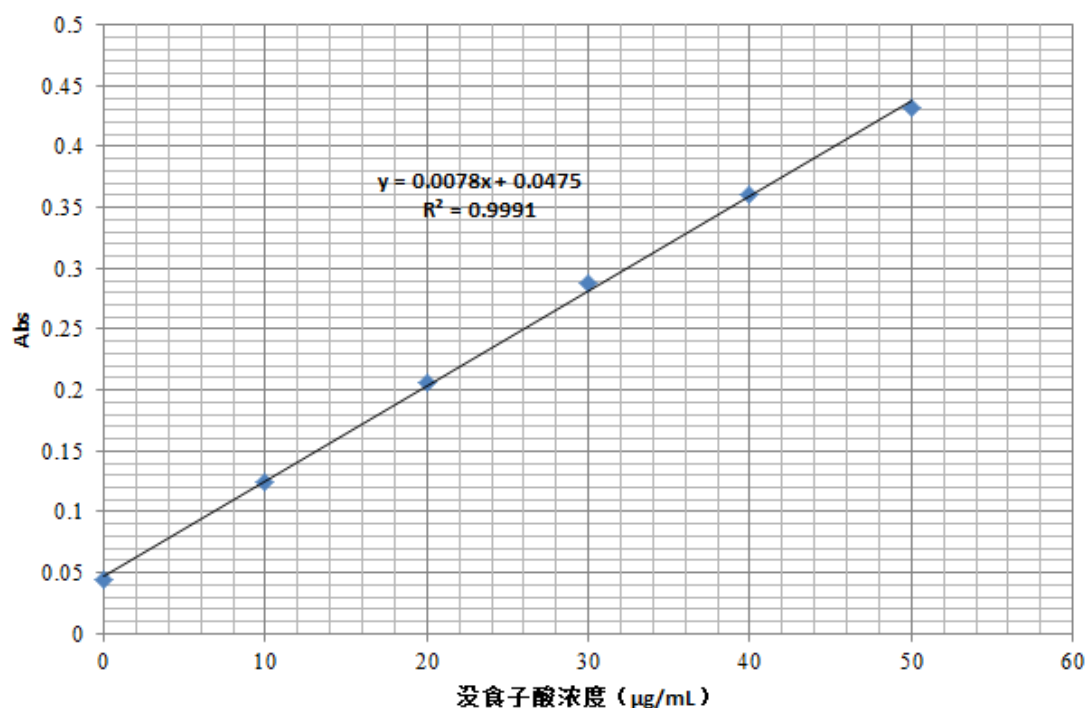
小明提取得到了一种中草药的粗提物，并将其冻干得到粉末，配制成 5 mg/mL 的溶液，分析其总多酚含量。

小明预估自己的样品中多酚含量较高，于是将样品 10 \times ，100 \times ，500 \times 稀释，分别得到 500 $\mu\text{g/mL}$ ，50 $\mu\text{g/mL}$ ，10 $\mu\text{g/mL}$ 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	0.044	0.045	0.044	0.044
	10	0.123	0.123	0.126	0.124
	20	0.209	0.201	0.208	0.206
	30	0.287	0.289	0.288	0.288
	40	0.366	0.355	0.362	0.361
	50	0.429	0.436	0.43	0.432
样品 1		0.608	0.621	0.591	0.607
样品 2		0.123	0.124	0.124	0.124
样品 3		0.062	0.063	0.063	0.063

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 1: $1.944\mu\text{g/mL}$

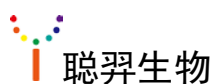
样品 2: $9.765\mu\text{g/mL}$

样品 3: $71.688\mu\text{g/mL}$

因为样品 1 的平均吸光值 0.597 大于标准曲线中的最大吸光值 0.432，认为不在线性范围，舍弃；样品 2、3 的平均吸光值 0.120，0.063 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 $\mu\text{g/mL}$ 中草药粗提物样品中，多酚含量为 9.252 $\mu\text{g/mL}$ 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： $9.252 \div 50 \times 1000 \text{mg/g} = 185.040 \text{mg/g}$ 等价没食子酸，或表示为 185.040 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。