

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

产品货号: GBQ166

产品规格: 96T(40 samples)

检测仪器: 酶标仪(750-770 nm)

Elabscience®植物总酚比色法测试盒

Total Phenols Colorimetric Assay Kit (Plant Samples)

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

电话: 400-999-2100

邮箱: biochemical@elabscience.cn

网址: www.elabscience.cn

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。

联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

用途

本试剂盒适用于检测植物组织样本中的植物总酚的含量。

检测原理

在碱性条件下，酚类物质将钨钼酸还原，产生蓝色化合物，测试样本提取液在 760 nm 处有最大吸收，其颜色深浅与总酚含量呈正比，通过比色可计算样品的总酚含量。

提供试剂和物品

| 编号 | 名称 | 规格 (Size)(96 T) | 保存方式 (Storage) |
|--------------------|------------------------------|--------------------|----------------------|
| 试剂一 (Reagent 1) | 显色剂 (Chromogenic Reagent) | 10 mL×1 瓶 | 2-8°C 避光 保存 12 个月 |
| 试剂二 (Reagent 2) | 碱试剂 (Alkali Reagent) | 粉剂×1 瓶 | 2-8°C 保存 12 个月 |
| 试剂三 (Reagent 3) | 标准品 (Standard) | 粉剂×2 支 | 2-8°C 避光 保存 12 个月 |
| | 96 孔酶标板 | 96 孔×1 块 | 无要求 |
| | 96 孔覆膜 | 2 张 | |
| | 样本位置标记表 | 1 张 | |

说明：试剂严格按上表中的保存条件保存，不同测试盒中的试剂不能混用。

对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。

所需自备物品

仪器: 真空干燥箱, 酶标仪(检测波长范围为 750-770 nm, 最佳检测波长为 760 nm)

试剂: 60%无水乙醇

试剂准备

① 检测前, 试剂盒中的试剂平衡至室温。

② 试剂二工作液配制:

取一瓶试剂二加入10 mL双蒸水溶解, 可2-8°C保存1个月。

③ 1 mg/mL标准品的配制:

取一支标准品用10 mL双蒸水溶解, 可2-8°C避光保存1个月。

④ 不同浓度标准品的稀释:

| 编号 | ① | ② | ③ | ④ | ⑤ | ⑥ | ⑦ | ⑧ |
|------------------------------|------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| 标准品浓度($\mu\text{g/mL}$) | 0 | 20 | 40 | 60 | 80 | 100 | 120 | 150 |
| 1 mg/mL 标准品(μL) | 0 | 20 | 40 | 60 | 80 | 100 | 120 | 150 |
| 双蒸水(μL) | 1000 | 980 | 960 | 940 | 920 | 900 | 880 | 850 |

样本准备

① 样本处理

组织样本：称取新鲜植物组织(5-10 g)，用水冲洗表面，滤纸吸干，放置于真空干燥箱 80°C 烘干至恒重(两次称量所得质量之差不超过 0.3 mg)，粉碎，室温密封保存。

称取 0.04 g 处理后的植物组织粉末，加入 1 mL 60 %乙醇溶液，匀浆 60 s，室温，10000 × g 离心 10 min，取上清液待测。

② 样本的稀释

在正式检测前，需选择2-3个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验，根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围：1.05-148 μg/mL，请参考下表稀释(仅供参考)：

| 样本 | 稀释倍数 | 样本 | 稀释倍数 |
|--------|-------|-------|-------|
| 绿萝上清液 | 20-30 | 菠菜上清液 | 15-25 |
| 胡萝卜上清液 | 5-15 | 韭菜上清液 | 10-20 |

注：稀释液为 60%无水乙醇。

实验关键点

- ① 加完试剂一，室温静置 2 min 再加入其他试剂。
- ② 加入试剂二工作液和双蒸水后，需室温静置 10 min，再去测量。

操作步骤

- ① 标准孔：取 10 μL 不同浓度的标准品溶液，分别加入酶标板对应的标准孔中；
测定孔：取 10 μL 样本提取液加入酶标板对应的测定孔中；
对照孔：取 10 μL 样本提取液加入酶标板对应的对照孔中。
- ② 向步骤①标准孔与测定孔中加入 50 μL 试剂一，对照孔加入 50 μL 双蒸水，振板 5 s，室温静置 2 min。
- ③ 向步骤②各孔加入 50 μL 试剂二工作液。
- ④ 向步骤③各孔中加入 90 μL 双蒸水。
- ⑤ 振板 5 s，室温静置 10 min，酶标仪 760 nm 波长下测定各孔吸光度。

操作表

| | 标准孔 | 测定孔 | 对照孔 |
|--|-----|-----|-----|
| 不同浓度的标准品溶液(μL) | 10 | -- | -- |
| 待测样本(μL) | -- | 10 | 10 |
| 试剂一(μL) | 50 | 50 | |
| 双蒸水 | | | 50 |
| 振板 5 s，室温静置 2 min | | | |
| 试剂二工作液(μL) | 50 | 50 | 50 |
| 双蒸水(μL) | 90 | 90 | 90 |
| 振板 5 s，室温静置 10 min，使用酶标仪在波长 760 nm 下测定各孔吸光度。 | | | |

结果计算

标准品拟合曲线: $y = ax + b$

组织样本中植物总酚含量计算公式:

$$\text{植物总酚含量 (mg/g wet weight)} = (\Delta A_{760} - b) \div a \times V \div m \div 1000^* \times f$$

注解:

y: 标准品 OD 值-空白 OD 值(标准品浓度为 0 时的 OD 值)

x: 标准品的浓度

a: 标曲的斜率

b: 标曲的截距

ΔA_{760} : 样本 OD 值-对照 OD 值

V: 加入提取液的体积, 1 mL

m: 样本质量, 0.04 g

*: 单位换算(1000 μg =1 mg)

f: 样本加入检测体系前的稀释倍数

附录1 关键数据

1. 技术参数

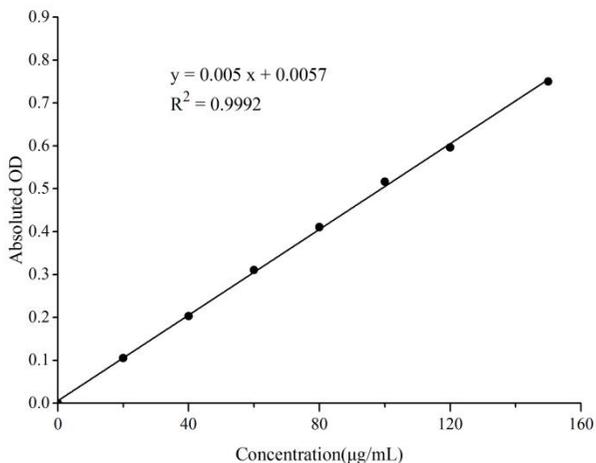
| | | | |
|-------|---------------------------|-------|-------|
| 检测范围 | 1.05-148 $\mu\text{g/mL}$ | 平均批间差 | 4.4 % |
| 灵敏度 | 1.05 $\mu\text{g/mL}$ | 平均批内差 | 4.1 % |
| 平均回收率 | 95 % | | |

2. 标准曲线(数据仅供参考)

①不同浓度的标准品加样量10 μL ，按照操作步骤进行实验，读取各点OD值如下表所示：

| 标准品浓度 ($\mu\text{g/mL}$) | 0 | 20 | 40 | 60 | 80 | 100 | 120 | 150 |
|-------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| OD 值 | 0.050 | 0.150 | 0.251 | 0.354 | 0.458 | 0.564 | 0.642 | 0.817 |
| | 0.050 | 0.161 | 0.255 | 0.367 | 0.462 | 0.569 | 0.650 | 0.783 |
| 平均 OD 值 | 0.050 | 0.155 | 0.253 | 0.360 | 0.460 | 0.567 | 0.646 | 0.800 |
| 绝对 OD 值 | 0.000 | 0.105 | 0.203 | 0.311 | 0.411 | 0.517 | 0.596 | 0.750 |

②制标准曲线，如下图所示：



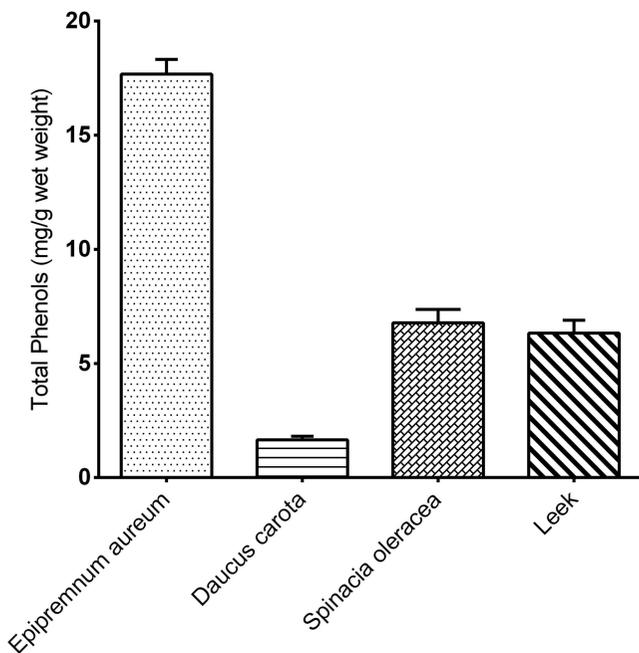
附录2 实例分析

例如检测绿萝组织(数据仅供参考):

取绿萝组织上清液(稀释了30倍), 加样量为10 μ L, 按操作表操作, 其结果如下: 标准曲线: $y = 0.005x + 0.0057$, 对照孔OD值为0.050, 测定孔值为0.170, 计算结果为:

$$\begin{aligned} \text{植物总酚含量(mg/g 组织)} &= (0.170 - 0.050 - 0.0057) \div 0.005 \times 1 \div 0.04 \div 1000 \times 20 \\ &= 11.43 \text{ mg/g 组织} \end{aligned}$$

按说明书操作, 测定绿萝组织上清液(稀释30倍, 加样量为10 μ L)、胡萝卜组织上清液(稀释10倍, 加样量为10 μ L)、菠菜组织上清液(稀释20倍, 加样量为10 μ L)和韭菜组织上清液(稀释20倍, 加样量为10 μ L)中的植物总酚含量(如下图):



附录3 问题答疑

| 问题 | 可能原因 | 建议解决方案 |
|------------|--------------------------|-----------------------|
| 复孔差异大 | 检查微板孔底部是否有异物或受损 | 加入试剂前检查微板,在透光率正常的孔内反应 |
| 样本和标准品显色很低 | 每次加完试剂二工作液和双蒸水未静置 10 min | 严格按照说明书操作,重新检测 |
| 样本测量值低 | 样本稀释倍数太大 | 选择合适稀释倍数,重新检测 |
| | 样本保存时间过长或者保存不当 | 取新鲜样本,重新处理样本,重新检测 |

声明

1. 试剂盒仅供研究使用,如将其用于临床诊断或任何其他用途,我公司将不对因此产生的问题负责,亦不承担任何法律责任。
2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器,严格按照说明书进行实验。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围。如果样品中待测物浓度过高或过低,请对样本做适当的稀释或浓缩。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中,建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责,不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责,使用前请充分考虑样本可能的使用量,预留充足的样本。

附录4 客户发表文献

1. Lee H Y, Back K. Melatonin Induction and Its Role in High Light Stress Tolerance in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Journal of Pineal Research*, 2018. IF:15.221
2. Ho Byoung Chae , Min Gab Kim , Chang Ho Kang , et al. Redox sensor QSOX1 regulates plant immunity by targeting GSNOR to modulate ROS generation[J]. *Molecular Plant*, 2021 Aug; 14:1312. IF:13.164
3. Adhikari B, Adhikari M, Ghimire B, et al. Cold plasma seed priming modulates growth, redox homeostasis and stress response by inducing reactive species in tomato (*Solanum lycopersicum*)[J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 2020, 156: 57-69. IF:7.376
4. Naseh A, Shirin B, Maryam M, et al. Attenuation of chronic arsenic neurotoxicity via melatonin in male offspring of maternal rats exposed to arsenic during conception: Involvement of oxidative DNA damage and inflammatory signaling cascades[J]. *Life Sciences* 266 (2021) 118876. IF:5.037
5. Liu S Y, Yi S C, Qiu Z X, et al. Bruceine D, the main active ingredient of *Brucea javanica* (L.) residue inhibits the germination of *Bidens pilosa* L. seeds by suppressing phenylpropanoid biosynthesis[J]. *Industrial Crops and Products*, 2021. IF:4.633
6. Darband S G, Sadighparvar S, Yousefi B, et al. Quercetin attenuated oxidative DNA damage through NRF2 signaling pathway in rats with DMH induced colon carcinogenesis[J]. *Life sciences*, 2020(253-). IF:3.708
7. Otie V, Udo I, Shao Y, et al. Salinity Effects on Morpho-Physiological and Yield Traits of Soybean (*Glycine max* L.) as Mediated by Foliar Spray with Brassinolide. *Plants* (Basel). 2021; 10 (3). IF:2.2Jung D S, Son Y J, Shin J M, et al. Gymnaster Koraiensis Extract Alleviated Metabolic Syndrome Symptoms and Stimulated UCP1-Independent Energy Consumption via AMPK Activation in White Adipose Tissue[J]. *Molecular Nutrition & Food Research*, 2020. IF:5.309

