

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

**产品货号：E-BC-K354-S**

**产品规格：100 assays(42 samples)/200 assays(92 samples)**

**检测仪器：紫外-可见光分光光度计（760 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](mailto:biochemical@elabscience.cn)

网址：[www.elabscience.cn](http://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，在特征吸收峰 760 nm 处，颜色的深浅与酚的含量呈正比例关系，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 1(Size 1) (100 assays)	规格 2(Size 2) (200 assays)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	福林-酚试剂 (Folin Phenol Reagent)	60 mL×1 瓶	60 mL×2 瓶	2-8°C避光 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	碱 (Alkali)	粉剂×2 瓶	粉剂×4 瓶	2-8°C 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	邻苯二酚 (O-dihydroxybenzene)	粉剂×4 支	粉剂×8 支	2-8°C避光 保存 6 个月

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：**紫外-可见分光光度计（760 nm）、涡旋混匀仪、烘箱、粉碎仪、超声波细胞粉碎机、磁力搅拌器

**耗材：**吸水纸、擦镜纸、磁力搅拌子

**试剂：**双蒸水、60%乙醇

## 试剂准备

① 检测前，试剂盒中的试剂平衡至室温。

② 试剂二应用液的配制：

取一瓶试剂二加入50 mL双蒸水溶解，2-8℃保存1个月。

③ 1 mg/mL邻苯二酚的配制：

取一支试剂三用10 mL双蒸水溶解，2-8℃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
标准品浓度(μg/mL)	0	20	40	80	100	120	150
1 mg/mL 标准品(μL)	0	20	40	80	100	120	150
双蒸水(μL)	1000	980	960	920	900	880	850

## 样本准备

### ① 样本处理

组织样本：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 40°C 烘干至恒重（两次称量所得质量之差不超过 0.3 mg），粉碎，过 40 目筛，室温密封保存。

称取 0.1 g 处理后的植物组织，加入 2.5 mL 60% 乙醇，用超声波细胞粉碎机进行提取，超声功率 300 W，破碎 3 s，间歇 4 s，提取 30 min，25°C，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：0.73-150 μg/mL，请参考下表稀释(仅供参考)：

总酚含量 (μg/mL)	样本与 60%乙醇的体积比	稀释倍数
<150	不稀释	1
150-1500	1:9	10

## 实验关键点

邻苯二酚的标准液必须现用现配，因为邻苯二酚溶液易氧化。

## 操作步骤

- ① 标准管：取 0.1 mL 不同浓度的邻苯二酚，加入相应编号的 5 mL EP 管中；  
对照管：取 0.1 mL 待测样本，加入 5 mL EP 管中；  
测定管：取 0.1 mL 待测样本，加入 5 mL EP 管中。
- ② 向标准管、测定管加入 0.5 mL 试剂一，涡旋混匀，室温静置 2 min。
- ③ 向标准管、测定管加入 0.5 mL 试剂二应用液、0.9 mL 双蒸水，对照管加 0.5 mL 试剂二应用液、1.4 mL 双蒸水，涡旋混匀。
- ④ 室温静置 10 min，760 nm，0.5 cm 光径石英比色皿，双蒸水调零，测定各管吸光度。

## 操作表

	对照管	标准管	测定管
待测样本 (mL)	0.1	--	0.1
不同浓度的邻苯二酚 (mL)	--	0.1	--
试剂一 (mL)	--	0.5	0.5
混匀，室温静置 2 min			
试剂二应用液 (mL)	0.5	0.5	0.5
双蒸水 (mL)	1.4	0.9	0.9
混匀，室温静置 10 min，760 nm，0.5 cm 光径石英比色皿，双蒸水调零，测定各管吸光度。			

## 结果计算

标准品拟合曲线:  $y = ax + b$

组织样本中总酚含量计算公式:

$$\text{总酚含量} = (\Delta A_{760} - b) \div a \times V \div W \div 1000 * \times f$$

(mg/g 组织)

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

$\Delta A_{760}$ : 样本 OD 值-对照 OD 值

V: 加入提取液的体积, 2.5 mL

W: 样本质量, 0.1 g

\*: 单位换算(1000  $\mu\text{g}$ =1 mg)

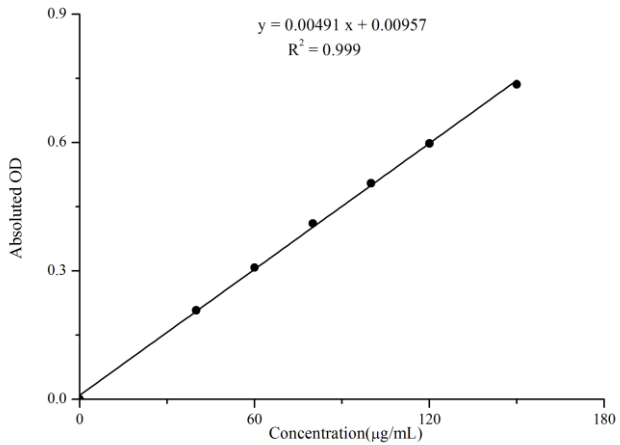
f: 样本加入检测体系前的稀释倍数

## 附录1 关键数据

### 1. 技术参数

检测范围	0.73-150 $\mu\text{g/mL}$	平均批间差	2.5 %
灵敏度	0.73 $\mu\text{g/mL}$	平均批内差	1.9 %
平均回收率	101 %		

### 2. 标准曲线(数据仅供参考)



## 附录2 实例分析

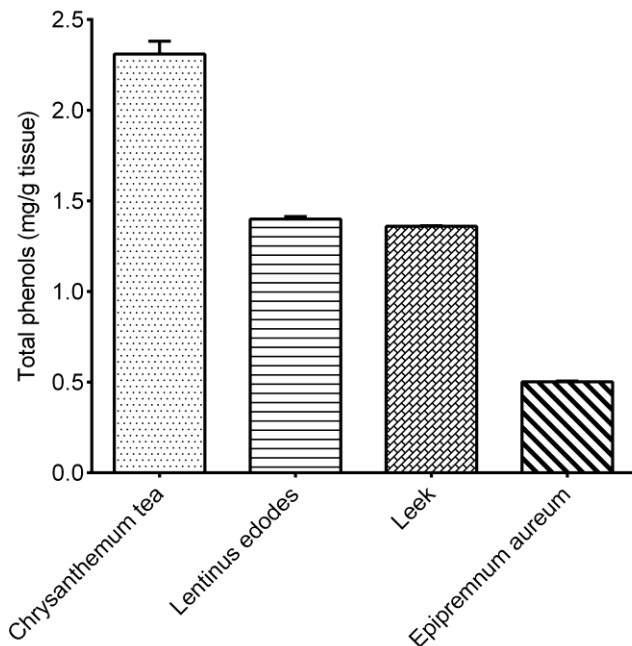
例如检测香菇(数据仅供参考):

取0.1 mL香菇上清液按说明书操作, 结果如下:

测定管平均OD值为0.288, 对照管平均OD值0.003, 标准曲线为 $y = 0.00514x + 0.00525$ ( $R^2=0.99723$ ), 计算结果为:

$$\begin{aligned} \text{总酚含量 (mg/g组织)} &= (0.288 - 0.003 - 0.00525) \div 0.00514 \times 5 \text{ mL} \div 0.2 \text{ g} \div 1000 \\ &= 1.361 \text{ mg/g组织} \end{aligned}$$

按照说明书操作, 测定菊花茶(加样量为0.1 mL)、香菇(加样量为0.1 mL)、韭菜(加样量为0.1 mL)、绿萝(加样量为0.1 mL)中总酚含量(如图):





### 附录3 问题答疑

问题	可能原因	建议解决方案
复孔差异大	微量移液器使用不熟练	小心加样,避免液体溅到其它测样管中
	未严格按照说明书操作	严格按照说明书操作

#### 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



