

(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-M

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 ℃ 避光 保存 12 个月
试剂二 (Reagent 2)	碱试剂 (Alkali Reagent)	粉剂×1 瓶	2-8 ℃ 保存 12 个月
试剂三 (Reagent 3)	标准品 (Standard)	粉剂×2 支	2-8 ℃ 避光 保存 12 个月
	96 孔酶标板	1 板	
	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℃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℃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 ℃ 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:

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

(mg/g wet weight)

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

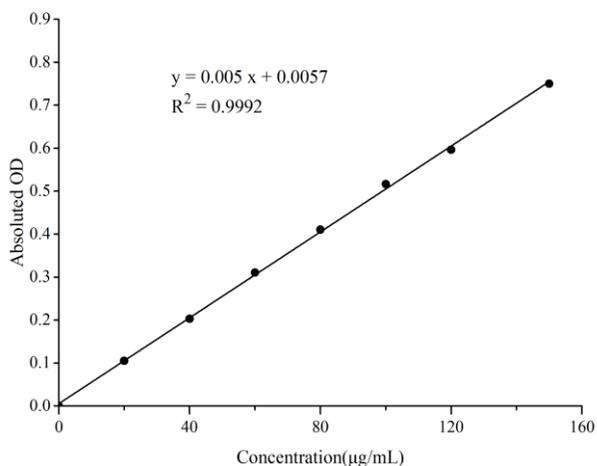
检测范围	1.05-148 $\mu\text{g/mL}$	平均批间差	4.4 %
灵敏度	1.05 $\mu\text{g/mL}$	平均批内差	4.1 %
平均回收率	95 %		

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：



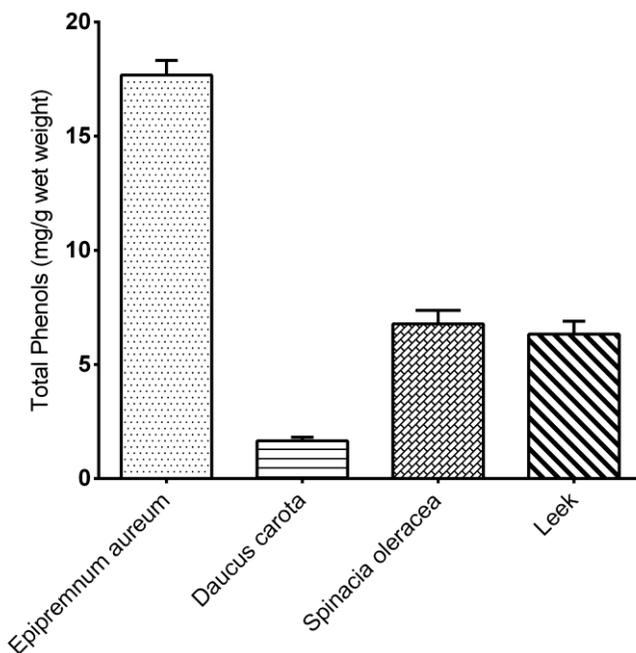
附录2 实例分析

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 μL , 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:

$$\begin{aligned}\text{植物总酚含量}(\text{mg/g 组织}) &= (0.170 - 0.05 - 0.0057) \div 0.005 \times 1 \div 0.04 \div 1000 \times 20 \\ &= 11.43 \text{ mg/g 组织}\end{aligned}$$

按说明书操作, 测定绿萝组织上清液(稀释30倍, 加样量为10 μL)、胡萝卜组织上清液(稀释10倍, 加样量为10 μL)、菠菜组织上清液(稀释20倍, 加样量为10 μL)和韭菜组织上清液(稀释20倍, 加样量为10 μL)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

