

总酚 (Tp) 检测试剂盒微板法

使用说明书

产品货号: BP10462W

注意: 请在试剂盒保质期内使用, 具体保质期见外包装标签。

本产品仅供科学研究使用, 不能用于临床诊断。

检测范围: 1-150 μ g/mL

灵敏度: 1 μ g/mL

有效期: 6 个月

保存温度: 2-8 $^{\circ}$ C

检测原理:

总酚是一类具有抗氧化和清除自由基功能的活性物质。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。

注意事项:

1. 不能使用过期产品，不同货号 and 批号组分不得混用。
2. 本试剂开封后请尽快使用，以免空气、采样污染引起试剂变质。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 如果可能传播疾病，所有的样品都应管理好，按照规定的程序处理样品和检测装置。
5. 试剂严格按保存条件保存，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。试剂盒中如有提供粉剂，使用前请甩几下，使粉剂落入底部。

试剂盒组分：

| 试剂名称 | 规格（48T/20S） | 规格（96T/44S） | 保存条件 |
|------|-------------|-------------|---------|
| 试剂一 | 2.5mL×1 瓶 | 5mL×1 瓶 | 2-8℃，避光 |
| 试剂二 | 粉剂×1 瓶 | 粉剂×2 瓶 | 2-8℃ |
| 标准品 | 粉剂×2 瓶 | 粉剂×4 瓶 | 2-8℃，避光 |

所需仪器耗材及试剂：

离心机、酶标仪、可调式移液器、60%无水乙醇、蒸馏水、真空干燥箱。

样本处理及要求:

1. **试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围**, 建议实验前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定, 根据预实验的结果, 结合本试剂盒的线性范围: 1-150 μ g/mL, 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, 样本的稀释液为蒸馏水。
2. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中, 建议做预实验验证其检测有效性。
3. **组织样本:** 称取新鲜植物组织(5-10g), 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 0.3mg), 粉碎, 室温密封保存。称取 0.04g 处理后的植物组织粉末, 加入 1mL60%乙醇溶液, 60°C 超声 30min, , 室温 10000 g 离心 10min, 取上清液待测。

检测前准备工作:

1. 请提前取出试剂盒，平衡至室温。
2. 试剂二工作液：取一瓶试剂二加入 3mL 蒸馏水溶解，可 2-8℃ 保存 1 个月。
3. **标准品溶液的配制**：取一瓶标准品加 5mL 蒸馏水混匀，为 1mg/mL 标准品母液，母液 2-8℃ 避光可保存 1 个月。按下表用对应量的蒸馏水稀释成以下浓度的标准品工作液：0mg/mL、20mg/mL、40mg/mL、60mg/mL、80mg/mL、100mg/mL、120mg/mL、150mg/mL。（注：配制目标浓度的标准品工作液时，每次请根据表格从标准品母液中取对应的体积与相应稀释液混合均匀后使用。）

| 编号 | ① | ② | ③ | ④ | ⑤ | ⑥ | ⑦ | ⑧ |
|----------------|------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| 标准品浓度(mg/mL) | 0 | 20 | 40 | 60 | 80 | 100 | 120 | 150 |
| 1mg/mL 标准品(μL) | 0 | 20 | 40 | 60 | 80 | 100 | 120 | 150 |
| 蒸馏水(μL) | 1000 | 980 | 960 | 940 | 920 | 900 | 880 | 850 |

也可根据实际样本来调整标准品浓度。按照标准孔加样体系操作，依据结果即可制作标准曲线；本说明书中的标曲是用蒸馏水稀释得出，若选取其他稀释液可选择重做标曲。

操作步骤:

1. 酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 760nm。
2. 样本测定 (在 96 孔板中依次加入):

| 试剂名称(μL) | 标准孔 | 测定孔 | 对照孔 |
|--|-----|-----|-----|
| 不同浓度标准品 | 10 | | |
| 样本 | | 10 | 10 |
| 试剂一 | 50 | 50 | |
| 蒸馏水 | | | 50 |
| 震荡板孔 5s 混匀, 室温静止 2min。 | | | |
| 试剂二工作液 | 50 | 50 | 50 |
| 蒸馏水 | 90 | 90 | 90 |
| 震板 5s, 室温静止 10min, 在 760nm 波长下测定各孔 OD 值。 | | | |

实验结果结算：

1. 标准品拟合曲线： $y=ax+b$ 。

2. 组织样本中总酚含量计算公式：

$$\text{总酚(mg/g wet weight)}=(\Delta A-b)\div a\times V\div m\div 1000\times N$$

注：

y: 标准孔 OD 值-空白孔 OD 值

(标准品浓度为 0 时的 OD 值)

a: 标准曲线斜率

x: 吸光度对应的浓度

b: 标准曲线截距

ΔA : 测定孔 OD 值-对照孔 OD 值

N: 样本的稀释倍数

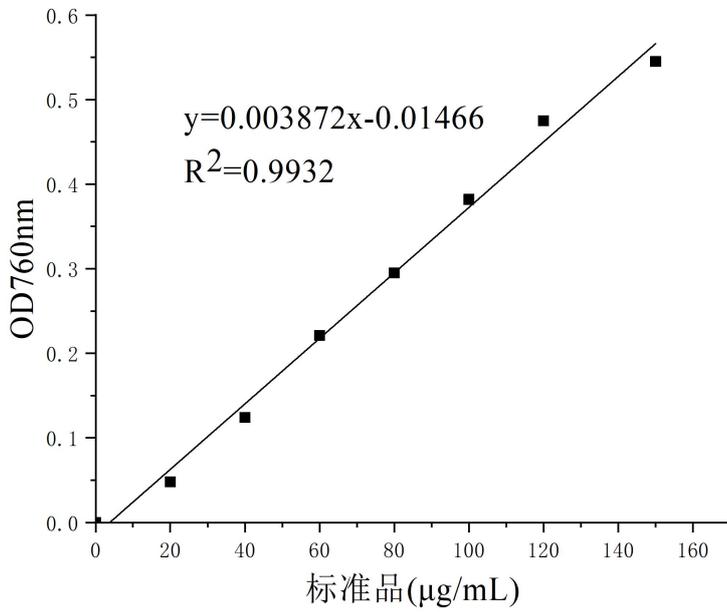
V: 加入 60%无水乙醇的体积, 1mL

1000: 单位换算, $1000\ \mu\text{g}=1\text{mg}$

W: 样本质量, 0.04g

参考曲线:

$y=0.003872x-0.01466$, $R^2=0.9932$, x 是标准品浓度(mg/mL), y 是 ΔA 。



注意: 本图仅供参考, 应以每次实验数据所绘制标准曲线计算样本含量。