

多酚含量检测试剂盒(显色法)

产品编号	产品名称	包装
S0571S	多酚含量检测试剂盒(显色法)	100次
S0571M	多酚含量检测试剂盒(显色法)	500次

产品简介:

- 碧云天研发的多酚含量检测试剂盒(显色法), 即Polyphenol Colorimetric Assay Kit, 也称Polyphenol Assay Kit、Phenolic Compounds Assay Kit、总酚含量检测试剂盒, 是一种基于酚类化合物与重氮盐的偶联反应, 通过检测吸光度, 快速、高灵敏地对水果、蔬菜、饮料(如茶、葡萄酒、咖啡)、植物提取物等样品中多酚含量进行高灵敏度检测的试剂盒。
- 多酚(Polyphenol, or Phenolic compounds), 是一类在植物体内普遍存在的多元酚结构的次生代谢物, 广泛存在于药用植物、蔬菜和水果中。植物多酚的主要类型包括简单的酚酸(如没食子酸和香草酸)、黄酮类(如黄酮、黄酮醇、儿茶素)、类二苯乙烯、木酚素和聚合多酚类物质(如原花青素和单宁酸)。这些化合物在植物抵御紫外线辐射中起着重要作用, 对食草动物和微生物起到威慑或拮抗作用, 在植物生长、成熟等过程中也起着信号分子的作用[1-3]。大量研究表明, 很多酚类化合物具有抗氧化、抗微生物、抗癌、抗炎等多种作用, 可用于预防心血管疾病、癌症、糖尿病以及与氧化应激有关的疾病[4-5]。多酚广泛存在于植物中, 检测其含量有助于更好地利用植物资源, 同时可以进一步探索其在医药、保健等领域的应用潜力。
- 本试剂盒的检测原理请参考图1。酚类化合物在碱性条件下与重氮盐(Diazonium salt)偶合形成稳定的重氮发色团(Diazo chromophore), 通过检测重氮发色团在420nm的吸光度来计算样品中多酚的没食子酸当量。重氮发色团的吸光度与样品中多酚含量成正比。没食子酸当量(Gallic acid equivalent, GAE)是一种用于量化样品中多酚含量的标准方法, 即以没食子酸作为标准品, 通过比较其含量来计算其它多酚的含量。

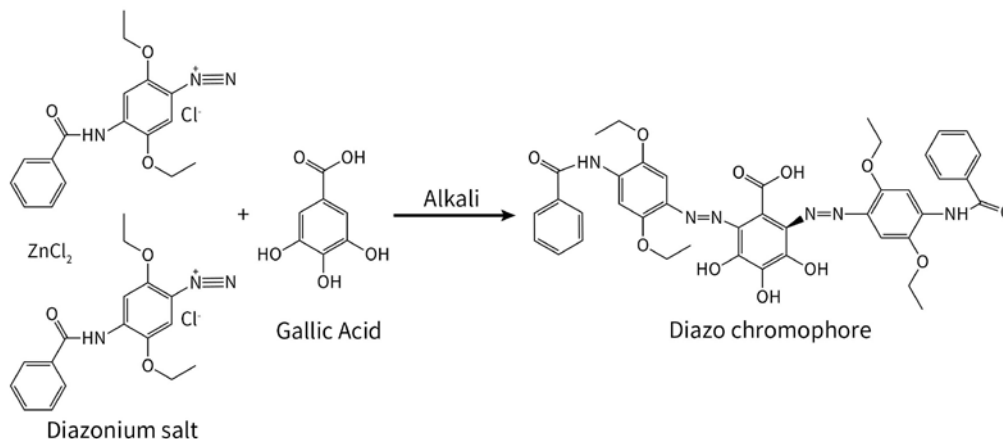


图1. 碧云天多酚含量检测试剂盒(显色法) (S0571)检测原理图。

- 本试剂盒特异性强、检测灵敏度高, 线性范围宽, 样品用量少。相较于福林酚法, 本试剂盒不受非酚类还原物质(如亚硫酸盐、还原糖或抗坏血酸)和芳香族氨基酸(如酪氨酸、色氨酸)等的影响, 检测特异性更强, 检测灵敏度更高, 检测方法更为灵活。本试剂盒在样品体积为100μl时, 可以检测浓度低至0.05mM的多酚, 在0.05-5mM浓度范围内有良好的线性关系。本试剂盒提供了没食子酸标准溶液(Gallic Acid Standard), 可以通过绘制标准曲线(图2), 计算出样品中所含多酚的没食子酸当量。

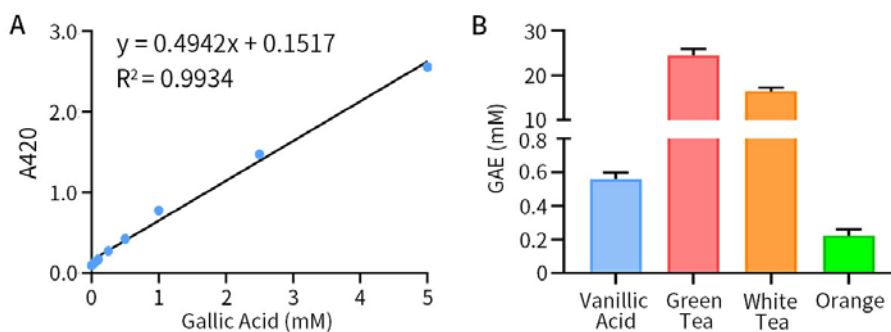


图2. 碧云天多酚含量检测试剂盒(显色法) (S0571)对没食子酸标准品和不同样品的检测效果。图A为本试剂盒对标准品没食子酸的检测效果图, 100μl经超纯水稀释的不同浓度的没食子酸标准品, 与20μl PC Probe和80μl PC Assay Buffer混匀后, 室温避光孵

育30分钟，测定A420，在0.05-5mM (5-500nmol)浓度范围内有良好的线性关系。图B为本试剂盒对阳性对照香草酸(Vanillic Acid)和绿茶(Green Tea)、白茶(White Tea)、橘子(Orange)样品中多酚含量的检测效果图，100μl经超纯水稀释的不同样品与20μl PC Probe检测工作液和80μl PC Assay Buffer混匀后，室温避光孵育30分钟，测定A420。实际检测数据会因实验条件、检测仪器等的不同而存在差异，图中数据仅供参考。

- **本试剂盒应用范围广。**本试剂盒可用于水果、蔬菜、饮料(如茶、葡萄酒、咖啡)、植物提取物样品等的检测，全程约40分钟即可完成。本试剂盒不仅适合少量样品的检测，也非常适合高通量筛选(High-throughput screening)的自动化操作系统。
- 按照使用说明操作，用于96孔板检测时，本试剂盒小包装可以进行100次检测，中包装可以进行500次检测。

包装清单：

产品编号	产品名称	包装
S0571S-1	PC Assay Buffer	10ml
S0571S-2	PC Probe	1ml
S0571S-3	Gallic Acid Standard (100mM)	50μl
S0571S-4	Vanillic Acid (100mM)	300μl
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
S0571M-1	PC Assay Buffer	50ml
S0571M-2	PC Probe	5ml
S0571M-3	Gallic Acid Standard (100mM)	250μl
S0571M-4	Vanillic Acid (100mM)	1.5ml
—	说明书	1份

保存条件：

-20℃保存，一年有效。其中PC Probe、Gallic Acid Standard (100mM)和Vanillic Acid (100mM)须避光保存。

注意事项：

- 需自备样品中多酚的提取液。可以根据样品的类型选择适当的提取方法，制备好的样品须用超纯水适当稀释后再进行测定。例如水果、蔬菜及其它植物样品的提取可以使用比例为70:29.5:0.5的甲醇(或乙醇)/超纯水/1M盐酸的提取液。
- PC Assay Buffer、Vanillic Acid (100mM)和Gallic Acid Standard (100mM)须完全解冻并平衡至室温后再使用，否则会影响检测结果。PC Probe使用时应置于冰上，使用完毕后各试剂应立即按照试剂盒要求的条件保存。
- 本试剂盒中体积较小的试剂使用时建议先离心数秒使液体沉降于管底，然后再使用。结冻的试剂必须完全融化并混匀后使用。
- 酶标仪检测时须使用适合显色法检测的透明96孔板，推荐选购碧云天的BeyoGold™ 96孔细胞培养板(FCP962)或96孔板(平底，带盖)(FPT010)。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明：

1. 样品的准备。

- a. **提取液的配制。**按照提取液的需要体积，配制比例为70:29.5:0.5的甲醇(或乙醇)/超纯水/1M盐酸溶液。例如配制10ml提取液，均匀混合7ml甲醇、2.95ml超纯水和50μl 1M盐酸，即得10ml提取液。配制好的提取液可在室温保存。也可以使用其它提取液进行酚类的提取，不同提取液制备的样品的测定效果可能存在一定的差异。
注：使用乙醇替换甲醇配制的提取液的提取效果可能会略低一些。
- b. **水果、蔬菜及其它植物样品干品提取物的准备。**将水果、蔬菜及其它植物样品烘干或冻干至恒重，粉碎后过30-50目筛。按照每50mg烘干粉碎并过筛后的样品加入1ml提取液的比例加入提取液，适当混匀，使用超声清洗机以功率约300W、超声5秒，停8秒，60℃超声提取30分钟。常温约12,000×g离心5-10分钟，取上清用于后续检测。如果不能立即检测，也可以分装并短期保存于-20℃或-80℃。推荐碧云天的BeyoSonicator™数字加热型超声波清洗仪(E6900/E6903/E6906)。
注1：固定体积的提取液对于酚类的提取通常会有最大酚类含量的饱和度问题。提取液中多酚的含量达到饱和后，可能无法继续充分有效的提取。因此对于酚类含量较高样品的提取需要适当调整提取液的使用比例，例如加大提取液用量或适当减少样品的量。
注2：60℃超声提取过程中须注意密封以防止提取液的挥发，超声完成后须用提取液补足至初始体积。
- c. **果/蔬汁、饮料、冻干(已溶于适当溶剂)等液体样品的准备。**对于果/蔬汁、饮料等液体样品(如橙汁、茶、葡萄酒、咖啡)或已溶于适当溶剂中的水果、蔬菜等冻干样品可直接用超纯水(ST872)稀释后进行测定，参考步骤3c进行稀释倍数的记录。
注：请勿使用PC Assay Buffer提取样品中的多酚或稀释样品。

2. 试剂盒的准备。

- a. **试剂盒的准备。**融解PC Assay Buffer、Gallic Acid Standard (100mM)和Vanillic Acid (100mM)，平衡至室温后混匀备

用。PC Probe于融解后放置冰浴备用，使用完毕后宜立即按照试剂盒要求的条件保存。

- b. **PC Probe检测工作液(Working Solution)的配制。**按照每个检测反应20μl的体积配制适量的PC Probe检测工作液。均匀混合10μl PC Probe和10μl超纯水，即可配制成20μl PC Probe检测工作液。根据待检测样品(包括标准品)的数量，配制适量的PC Probe检测工作液。具体配制方法参考下表。配制好的PC Probe检测工作液如果置于4℃或冰浴避光保存，可以在当天使用，但建议尽量现配现用。

Samples	1	10	20	50
PC Probe (μl)	10	100	200	500
Ultrapure Water (μl)	10	100	200	500
Working Solution (μl)	20	200	400	1000

3. 样品测定。

- a. **没食子酸标准曲线设置。**取10μl Gallic Acid Standard (100mM)，加入190μl超纯水，混匀，配制成浓度为5mM的Gallic Acid标准溶液。分别取5mM的Gallic Acid标准溶液0、1、2、5、10、20、50、100μl加入96孔板的标准品孔中，并相应地用超纯水补足至100μl，此时，标准曲线的浓度分别为0、0.05、0.1、0.25、0.5、1、2.5、5mM。
注：吸光度检测时推荐使用透明96孔板(FCP962/FPT010/FPT011)。
- b. **阳性对照和阳性对照背景的设置。**配制50mM的香草酸阳性对照，例如取150μl Vanillic Acid (100mM)，加入等体积超纯水，混匀后即得50mM Vanillic Acid，分别取100μl加入96孔板中设为阳性对照孔和阳性对照背景孔。计算时阳性对照孔的读数需要减去阳性对照背景孔的读数。
注：香草酸阳性对照用于检测整个实验条件和体系是否正常，浓度为50mM。如果体系正常，可不设置阳性对照和阳性对照背景。
- c. **样品设置。**分别取1-100μl样品或稀释后的样品至96孔板样品孔和样品背景对照孔中，并相应地加入超纯水补足至100μl。
注：为确保样品数值在标准曲线范围内，建议进行预实验将样品设置多个稀释倍数，以确定样品中多酚的大致浓度，如果数值不在标准曲线范围内或接近标准曲线上下限，请调整样品的稀释倍数或者样品的量。样品总稀释倍数记为n (例如本步骤中对样品进行了10倍稀释，加入的‘稀释后的样品’为20μl，则n=10×100/20=50)。
- d. 除背景对照孔外，各孔加入20μl PC Probe检测工作液，混匀。**阳性对照背景孔和样品背景对照孔**各孔加入20μl PC Assay Buffer，混匀。
- e. 每孔加入80μl PC Assay Buffer，混匀，室温避光孵育30分钟。
- f. 反应结束后，请在A420nm进行吸光度检测。
- g. 标准品、样品和阳性对照的吸光度值需分别减去其相应的背景对照的吸光度值，建立标准曲线，并计算样品中多酚对应的没食子酸当量(A)。没食子酸标准曲线可以参考图2A，吸光度检测在0.05-5mM浓度范围内有良好的线性关系。样品中多酚对应的没食子酸当量浓度的计算公式如下：

Sample Phenolic Compound Concentration (mM GAE)=A×n

注：A为步骤3g根据标准曲线确定的没食子酸含量(mM)；

n为步骤3c样品总稀释倍数。

没食子酸当量(Gallic acid equivalent, GAE)的定义：将没食子酸作为标准品，通过比较其含量来计算其它多酚的含量。例如：样品中检测得到的总酚量与使用2mM没食子酸标准品测出来的总酚量相同时，称此时样品的总酚量为2mM没食子酸当量。通常也可以使用儿茶酚(Catechin)作为多酚含量检测的标准品，称为儿茶酚当量(Catechin equivalent, CE)。

参考文献：

- Shahidi F, Naczek M. CRC Press: New York. 2003. p558.
- Balasundram N, Sundram K, Samman S. Food Chem. 2006. 99:191–203.
- Lin LZ, Harnly JM. J Agric Food Chem. 2007. 55(4):1084–1096.
- Luca SV, Macovei I, Bujor A, et al. Crit Rev Food Sci Nutr. 2020. 60(4):626-659.
- Fraga CG, Croft KD, Kennedy DO, Tomás-Barberán FA. Food Funct. 2019, 10(2):514-528.

相关产品：

产品编号	产品名称	包装
C0016/C0017	乳酸脱氢酶细胞毒性检测试剂盒	100次/500次
C0018	乳酸脱氢酶细胞毒性检测试剂盒(WST-8法)	100次/500次
C0019	乳酸脱氢酶释放检测试剂盒(WST-8法)	100次/500次
S0110S	黄嘌呤氧化酶活性检测试剂盒(WST-8法)	100次
S0111S	黄嘌呤氧化酶抑制剂筛选试剂盒(WST-8法)	100次
S0112	Amplex Red黄嘌呤氧化酶活性检测试剂盒	100次/500次
S0113S	Amplex Red黄嘌呤氧化酶抑制剂筛选试剂盒	100次
S0114S	黄嘌呤/次黄嘌呤检测试剂盒(WST-8法)	100次
S0183S	果糖-6-磷酸检测试剂盒(WST-8法)	100次
S0185	G6P检测试剂盒(WST-8法)	100次

S0187S	磷酸葡萄糖异构酶活性检测试剂盒(WST-8法)	100次
S0189	G6PDH活性检测试剂盒(WST-8法)	100次
S0201	葡萄糖检测试剂盒(O-toluidine法)	200次/1000次
S0202	葡萄糖检测试剂盒(GOD/POD显色法)	100次/500次
S0204S	D-乳酸检测试剂盒(WST-8法)	100次
S0208S	L-乳酸检测试剂盒(WST-8法)	100次
S0211	Amplex Red胆固醇与胆固醇酯检测试剂盒	100次/500次
S0215	Amplex Red游离脂肪酸检测试剂盒	100次/500次
S0219	Amplex Red甘油三酯检测试剂盒	100次/500次
S0223	Amplex Red甘油检测试剂盒	100次/500次
S0227S	Amplex Red L-乳酸检测试剂盒	100次
S0231S	Amplex Red尿酸与尿酸酶检测试剂盒	100次
S0235S	Amplex Red磷酸盐检测试剂盒	100次
S0239S	Amplex Red乙醇检测试剂盒	100次
S0240	乙醇检测试剂盒(WST-8法)	100次/500次
S0241	乙醇脱氢酶活性检测试剂盒(WST-8法)	100次/500次
S0243	Amplex Red黄嘌呤/次黄嘌呤检测试剂盒	100次/500次
S0247S	Amplex Red谷氨酸与谷氨酸氧化酶检测试剂盒	100次
S0251S	Amplex Red过氧化氢与过氧化物酶检测试剂盒	100次
S0255S	Amplex Red过氧化氢酶检测试剂盒	100次
S0259S	Amplex Red单胺氧化酶检测试剂盒	100次
S0263S	Amplex Red鞘磷脂酶检测试剂盒	100次
S0267S	Amplex Red胆碱与乙酰胆碱检测试剂盒	100次
S0271S	Amplex Red乙酰胆碱酯酶检测试剂盒	100次
S0275S	Amplex Red磷脂酰胆碱检测试剂盒	100次
S0279S	Amplex Red磷脂酶D检测试剂盒	100次
S0283S	Amplex Red肌酸检测试剂盒	100次
S0287S	Amplex Red肌酸激酶检测试剂盒	100次
S0291S	Amplex Red肌酐检测试剂盒	100次
S0295S	Amplex Red肌氨酸检测试剂盒	100次
S0299S	Amplex Red丙酮酸检测试剂盒	100次
S0303S	Amplex Red丙酮酸激酶检测试剂盒	100次
S0307S	Amplex Red ADP检测试剂盒	100次
S0311S	Amplex Red磷酸烯醇式丙酮酸检测试剂盒	100次
S0315S	Amplex Red丙氨酸检测试剂盒	100次
S0319S	Amplex Red丙氨酸转氨酶检测试剂盒	100次
S0323S	Amplex Red α -酮戊二酸检测试剂盒	100次
S0327S	Amplex Red天冬氨酸检测试剂盒	100次
S0331S	Amplex Red天冬氨酸氨基转移酶检测试剂盒	100次
S0335S	Amplex Red柠檬酸检测试剂盒	100次
S0339S	Amplex Red草酰乙酸检测试剂盒	100次
S0343S	Amplex Red葡萄糖检测试剂盒	100次
S0347S	Amplex Red葡萄糖氧化酶检测试剂盒	100次
S0351S	Amplex Red果糖检测试剂盒	100次
S0355S	Amplex Red乳糖检测试剂盒	100次
S0359S	Amplex Red半乳糖与乳糖检测试剂盒	100次
S0363S	Amplex Red半乳糖与半乳糖氧化酶检测试剂盒	100次
S0367S	Amplex Red麦芽糖检测试剂盒	100次
S0371S	Amplex Red麦芽糖与葡萄糖检测试剂盒	100次
S0375S	Amplex Red糖原检测试剂盒	100次
S0379S	Amplex Red磷酸果糖激酶检测试剂盒	100次
S0383S	Amplex Red乙酰辅酶A检测试剂盒	100次

S0387S	Amplex Red辅酶A检测试剂盒	100次
S0391S	Amplex Red乙酰辅酶A合成酶检测试剂盒	100次
S0511S	L-苹果酸检测试剂盒(WST-8法)	100次
S0514S	苹果酸脱氢酶活性检测试剂盒(WST-8法)	100次
S0517S	延胡索酸检测试剂盒(WST-8法)	100次
S0520S	延胡索酸酶活性检测试剂盒(WST-8法)	100次
S0523S	异柠檬酸检测试剂盒(WST-8法)	100次
S0526S	异柠檬酸脱氢酶活性检测试剂盒(WST-8法)	100次
S0529S	Amplex Red琥珀酸检测试剂盒	100次
S0530S	琥珀酸脱氢酶活性检测试剂盒(显色法)	100次
S0532S	Amplex Red琥珀酰辅酶A合成酶检测试剂盒	100次
S0535S	支链氨基酸检测试剂盒(WST-8法)	100次
S0538S	N-乙酰氨基葡萄糖苷酶活性检测试剂盒(显色法)	100次
S0540S	酪氨酸检测试剂盒(显色法)	100次
S0542S	酪氨酸酶活性检测试剂盒(显色法)	100次
S0545S	酪氨酸酶抑制剂筛选试剂盒(显色法)	100次
S0547S	髓过氧化物酶活性检测试剂盒(显色法)	100次
S0548S	Amplex Red髓过氧化物酶活性检测试剂盒	100次
S0550S	Amplex Red髓过氧化物酶抑制剂筛选试剂盒	100次
S0554	葡萄糖摄取检测试剂盒(WST-8法)	100次/500次
S0556	葡萄糖摄取检测试剂盒(DTNB法)	100次/500次
S0561	葡萄糖摄取荧光检测试剂盒(2-NBDG)	10-100次/50-500次
S0565S	乙醛检测试剂盒(WST-8法)	100次
S0568S	乙醛脱氢酶活性检测试剂盒(WST-8法)	100次
S0571	多酚含量检测试剂盒(显色法)	100次/500次
S0574S	尿素检测试剂盒(显色法)	100次
S0577S	尿素酶活性检测试剂盒(显色法)	100次
P0321	碱性磷酸酶检测试剂盒	100次/500次
P0322	碱性磷酸酶检测试剂盒(荧光法)	100次/500次
P0326	酸性磷酸酶检测试剂盒	120次
P0327S	酸性磷酸酶检测试剂盒(荧光法)	100次
P0329	胎盘碱性磷酸酶检测试剂盒	100次
P0332	抗酒石酸酸性磷酸酶检测试剂盒	120次
P0335	抗氟离子酸性磷酸酶检测试剂盒	120次
P0392S	D-乳酸脱氢酶检测试剂盒(WST-8法)	100次
P0393S	L-乳酸脱氢酶检测试剂盒(WST-8法)	100次
P0395S	总乳酸脱氢酶检测试剂盒(WST-8法)	100次
P0405S	α -淀粉酶活性检测试剂盒(显色法)	100次
P0407S	糖化酶活性检测试剂盒(显色法)	100次
P0421S	细胞色素C氧化酶活性检测试剂盒(显色法)	100次