

茶多酚(TP)检测试剂盒(酒石酸铁比色法)说明书

本产品仅供体外研究使用，不得用于临床诊断

产品简介：

茶多酚(Tea Polyphenols, TP)是茶叶中多酚类物质的总称，包括黄烷醇类、花色苷类、黄酮类、黄酮醇类和酚酸类等，是一类儿茶素为主体的黄酮化合物，儿茶素占 60~80%，具有 C6-C3-C6 碳骨架结构，是一种重要的天然抗氧化物质，能够清除自由基。类物质茶多酚又称茶鞣或茶单宁，是形成茶叶色香味的主要成份之一，也是茶叶中有保健功能的主要成份之一，研究表明茶多酚等活性物质具解毒和抗辐射作用，能有效地阻止放射性物质侵入骨髓，并可使锶 90 和钴 60 迅速排出体外。

茶多酚(TP)检测试剂盒(酒石酸铁比色法)检测原理是以酒石酸铁为底物，利用茶多酚与酒石酸铁反应，生成稳定紫蓝色化合物，以分光光度计 540nm 处测定吸光度，在一定范围内吸光度与颜色深浅的变化成正比，与标准曲线比较进而计算茶多酚含量，主要用于测定植物组织、血清等样品中茶多酚含量，尤其适用于测定茶叶中茶多酚含量。该试剂盒仅用于科研领域，不适用于临床诊断或其他用途。

产品组成：

名称	规格	保存条件
茶多酚(TP)检测试剂盒	50T	4℃
试剂(A):茶多酚标准(1mg/ml)	2ml	4℃避光
试剂(B):TP Assay Buffer	75m	4℃
试剂(C):TP 显色液	25ml	4℃避光
使用说明书	1 份	
有效期	3 个月	

自备材料：

- 1、茶叶、绿茶等待测样本
- 2、蒸馏水
- 3、研钵、200 目细胞筛
- 4、离心管或试管
- 5、水浴锅或电炉
- 6、离心机
- 7、比色杯、分光光度计

操作步骤(仅供参考):

1、准备样品:

①植物样品: 取 0.2g 植物组织, 研磨成粉末, 加入煮沸的蒸馏水 10ml, 沸水浴浸提 20min, 用 200 目细胞筛过滤, 滤渣再继续置于新的煮沸的 10ml 蒸馏水, 相同操作提取一次, 合并两次滤液, 5000r/min 离心 15min, 取上清液, 即为茶多酚提取液, 4℃避光保存, 用于茶多酚的检测; 绿茶等液体样本可直接用该试剂盒测定。

②血浆、血清和尿液样品: 血浆、血清按照常规方法制备后可直接用本试剂盒测定。

③细胞或组织样品: 取恰当细胞或组织裂解液, 如有必要可用蒸馏水进行适当匀浆, 5000r/min 离心 15min, 取上清液, 即为茶多酚提取液, 4℃避光保存。

④高浓度样品: 如果样品中含有较浓度的茶多酚, 可以使用蒸馏水进行适当稀释。

2、配制系列茶多酚标准: 用蒸馏水和茶多酚标准(1mg/ml), 按下表进行操作, 依次稀释。

加入物(μl)	1	2	3	4	5	6
茶多酚标准(1mg/ml)	10	25	50	150	250	400
蒸馏水	490	95	450	350	250	100
相当于茶多酚含量(μg/ml)	20	50	100	300	500	800

3、TP 加样: 按照下表设置空白管、标准管、测定管, 溶液应按照顺序依次加入, 并注意避免产生气泡; 如果样品中的 TP 浓度过高, 可以减少样品用量或适当稀释后再进行测定, 样品的检测最好能设置 2 平行管, 求平均值。

加入物(ml)	空白管	标准管	测定管
蒸馏水	0.5	0.25	0.25
系列茶多酚标准(1~6 号)	—	0.25	—
待测样品	—	—	0.25
TP 显色液	0.5	0.5	0.5
TP Assay Buffer	1.5	1.5	1.5

4、TP 测定: 以空白调零, 比色杯光径 1.0cm, 分光光度计测定 540nm 处标准管、测定管的吸光度。

计算:

以系列茶多酚标准浓度(1~6 号)(20、50、100、300、500、800 μg/ml)为横坐标, 以对应的吸光度为纵坐标, 绘制标准曲线, 求得回归方程。以测定管吸光度代入回归方程求得提取液中 TP 含量。

组织样本 TP 含量(μg/g)=(C×VT)/(W×VS)

式中: C=根据标准曲线求得提取液中茶多酚含量(μg/ml)

VT=提取液的总体积(ml)

W=组织样本的重量(g)

VS=测定时所用提取液的体积(ml)

液体样本 TP 含量($\mu\text{g/ml}$) $=\text{(C}\times\text{VT)}/\text{VS}$

式中: C=根据标准曲线求得提取液中茶多酚含量($\mu\text{g/ml}$)

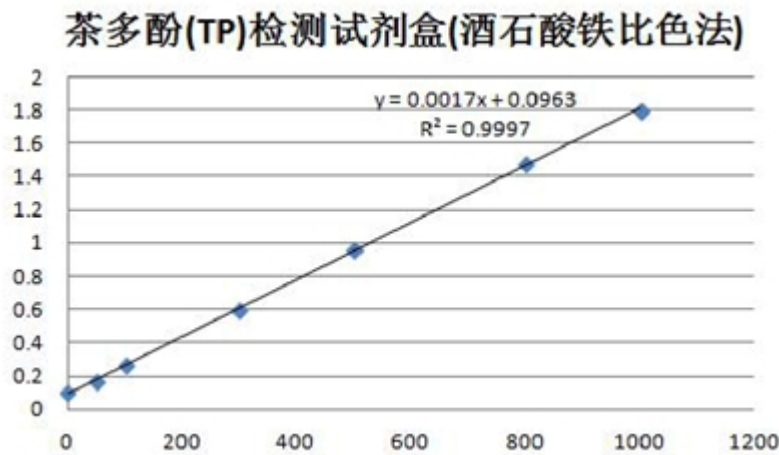
VT=提取液的总体积(ml)

VS=测定时所用提取液的体积(ml)

注意事项:

- 1、提取茶多酚时, 注意提前煮沸蒸馏水, 以便充分提取。提取液宜 4℃ 避光保存。
- 2、提取时间过长, 茶多酚会发生氧化反应, 导致测定结果不准确, 建议 2h 内测定完成。
- 3、如果没有分光光度计, 也可以使用普通的酶标仪测定, 但应注意酶标仪最大检测体积。
- 4、每次检测指标不宜过多, 否则操作时间不一, 有可能导致样本间的差异。
- 5、TP 显色液容易失效, 建议 4℃ 避光保存。
- 6、采用分光光度计未调零情况下, 空白参考值为 0.102, 100 $\mu\text{g/ml}$ 参考值为 0.265, 一般情况下浓度在 200~600 $\mu\text{g/ml}$ 时测定结果更准确; 由于仪器设备、操作方法等不同, 参考值会有差异。
- 7、该试剂盒测定范围为 10~1200 $\mu\text{g/ml}$; 以肉眼观察, 浓度小于 100 $\mu\text{g/ml}$ 几乎呈无色, 浓度大于 100 $\mu\text{g/ml}$ 即可显淡紫蓝色, 300 $\mu\text{g/ml}$ 呈明显的紫蓝色。

附录: 参考标准曲线范围: 测定茶多酚标准在 50、100、300、500、800、1000 $\mu\text{g/ml}$ 时的吸光度, 据此作出其参考标准曲线如下:



注意: 由于检测仪器和操作手法等条件的不同, 参考值范围会有波动, 该值仅供参考, 对于要求精确计算 TP 含量的, 可以采用标准曲线进行多点测定。