

单宁含量检测试剂盒说明书

微量法

货号: BC1395

规格: 100T/96S

产品组成: 使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致, 有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体 75 mL×2 瓶	2-8℃保存
试剂一	粉剂×1 瓶	常温保存
标准品	粉剂×1 支	2-8℃保存

溶液的配制:

1、标准品: 10 mg 单宁酸。临用前加入 1.175 mL 提取液溶解为 5000 nmol/mL 的标准液, 2-8℃保存两周。

产品说明:

单宁又称植物多酚, 是一类广泛存在于植物体内的多元酚化合物。单宁可作为潜在的生物标记物; 与蛋白质结合的能力又称为收敛性或涩性。其收敛性是多种生理活性的基础, 如止血、抗肿瘤、抗衰老等生理活性, 也是影响产品口感的因素之一。

根据光谱特性, 单宁在275nm下有较强的紫外吸收, 通过利用活性炭能够特异吸附单宁的性质来检测单宁含量。

注意: 实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

需自备的仪器和用品:

紫外分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96孔UV板、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、30-50目筛、蒸馏水。

操作步骤:

一、样本处理 (可适当调整待测样本量, 具体比例可以参考文献)

将样本烘干至恒重, 粉碎, 过 30-50 目筛之后, 称取约 0.05g, 加入 1mL 提取液 (封口膜封口防止液体溅出), 于 70℃水浴, 准确提取 30min, 期间可摇晃数次, 最后用提取液定容至 1mL。12000rpm, 25℃, 离心 10min, 取上清待测。

二、测定步骤

- 紫外分光光度计/酶标仪预热30min, 波长调至275nm, 紫外分光光度计提取液调零。
- 标准液的稀释: 将标准液用提取液稀释为25、12.5、6.25、3.125、1.5625、0.78125nmol/mL标准溶液。
- 标准液稀释可参考下表:

序号	稀释前浓度 (nmol/mL)	标准液体积 (μL)	提取液体积 (μL)	稀释后浓度 (nmol/mL)
1	5000	100	900	500
2	500	100	1900	25





3	25	1000	1000	12.5
4	12.5	1000	1000	6.25
5	6.25	1000	1000	3.125
6	3.125	1000	1000	1.5625
7	1.5625	1000	1000	0.78125

备注：下述实验中每个标准管需 500μL 标准溶液。

4. 加样表：

试剂名称	测定管	对照管	标准管	空白管
试剂一	大约5-7mg	-	-	大约5-7mg
提取液	-	-	-	0.5mL
标准溶液	-	-	0.5mL	-
样本	0.5mL	0.5mL	-	-

充分混匀震荡 5min, 13000g 室温离心 20min。取 200μL 上清液测定 275nm 下的吸光度, 分别记为 A 测定管、A 对照管、A 标准管、A 空白管, 计算 ΔA 测定=A 对照管-A 测定管, ΔA 标准=A 标准管-A 空白管。每个测定管需设一个对照管。标准曲线和空白管只需测 1-2 次。

三、单宁含量计算

1. 标准曲线的绘制：

根据标准管的浓度 (y, nmol/mL) 和吸光度 ΔA 标准 (x, ΔA 标准), 建立标准曲线。根据标准曲线, 将 ΔA 测定 (x, ΔA 测定) 带入公式计算样本浓度 (y, nmol/mL)。

2. 单宁含量计算：

(1) 按蛋白浓度计算

$$\text{单宁含量 (nmol/mg prot)} = y \times V_{\text{提取}} \div (V_{\text{提取}} \times C_{\text{pr}}) = y \div C_{\text{pr}}$$

(2) 按样本质量计算

$$\text{单宁含量 (nmol/g 质量)} = y \times V_{\text{提取}} \div W = y \div W$$

Cpr: 样本蛋白浓度, mg/mL; W: 样本质量, g; V提取: 提取液体积, 1mL。

注意事项：

1. ΔA 标准、 ΔA 测定出现负值为正常现象, 如果测定吸光值超过线性范围吸光值, 可以增大样本质量重提或者稀释样本后再进行测定, 注意同步修改计算公式;
2. 按蛋白浓度计算时, 由于提取液中含有破坏蛋白结构的成分, 故需要重新提取蛋白进行测定。

相关发表文献：

[1] Ren G, Yang P, Cui J, Gao Y, Yin C, Bai Y, Zhao D, Chang J. Multiomics Analyses of Two Sorghum Cultivars Reveal the Molecular Mechanism of Salt Tolerance. Front Plant Sci. 2022 May 23;13:886805. doi: 10.3389/fpls.2022.886805. PMID: 35677242; PMCID: PMC9168679..

相关系列产品：

BC1340/BC1345 植物总酚 (TP) 含量检测试剂盒

BC1330/BC1335 植物类黄酮含量检测试剂盒



本产品仅供科学研究使用。请勿用于临床、诊断、食品、化妆品检测等用途。

For research use only. Do not use for clinical, diagnostic, food, cosmetic testing and other purposes.

BC1350/BC1355 植物原花青素(OPC)含量检测试剂盒原花青素

BC1380/BC1385 植物花色苷含量检测试剂盒

