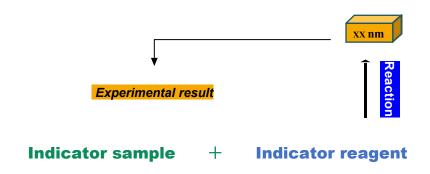


上海茁彩生物科技有限公司

Shanghai zcibio technology Co., Ltd.



生化检测原理示意图



单宁含量检测试剂盒说明书

微量法

注意:正式测定之前选择2-3个预期差异大的样本做预测定。

试剂的组成和配制:

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体100mL×2瓶	4℃保存	
试剂一	粉剂×1瓶	常温保存	
标准品	粉剂×1支	U°C保存	10mg单宁酸,临用前加入1.175mL提取液溶解为5000nmol/mL的标准液。

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。

自备实验用品及仪器:

紫外分光光度计/酶标仪、离心机、水浴锅、可调式移液器、微量石英比色皿/96孔UV板和蒸馏水。

测定操作:

1、样本处理:

将样本烘干至恒重,粉碎,过40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℃水浴提取30min,期间可摇晃数次。12000rpm,25℃,离心10min,取上清,用提取液定容至1mL,待测。

2、操作步骤:

- (1) 紫外分光光度计/酶标仪预热30min,波长调至275nm。蒸馏水调零。
- (2) 将5000nmo I/mL标准液用提取液稀释为6.25、3.125、1.5625、0.78625、0.4、0.2nmo I/mL标准溶液。



(3) 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
蒸馏水	_	-	_	0. 5mL
标准溶液	_	_	0. 5mL	_
样品	0. 5mL	0. 5mL	_	_

充分混匀震荡5min, 13000g 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,A标准=A标准管-A空白管。

单宁含量计算:

1、标准曲线的绘制:

以标准溶液的浓度为x轴,以A标准为y轴,绘制标准曲线,得到方程y=kx+b,将 ΔA 测定带入方程中得到x(nmo I/mL)

- 2、单宁含量计算:
 - 1 按蛋白浓度计算:

单宁含量 (nmol/mg prot) =x × V提取÷ (V提取×Cpr) =x÷Cpr。

2 按样本鲜重计算:

单宁含量 (nmol/g 鲜 重) =x X V 提取÷W=x÷W。

Cpr: 样品蛋白浓度, mg/mL(蛋白浓度需重新用PBS提取测定); W: 样品质量, g; V提取: 提取液体积, 1mL。

注意事项:

1、 当ΔA大于1.5时,建议将样品上清液用提取液稀释更大倍数后测量;ΔA过小时,建议减少稀释倍数或增加样品质量来测定。

Shanghai ZCIBIO Technology Co.,Ltd. TEL:021-65681082 Email:zcibio@163.com www.zcibio.com