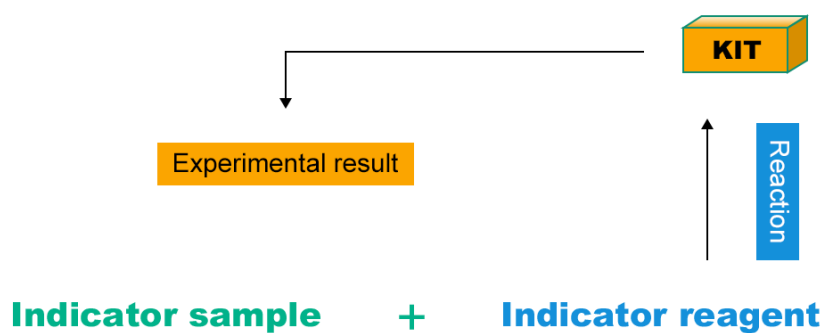


上海茁彩生物科技有限公司
ZCIBIO Technology Co., Ltd



生化检测原理示意图

Cat. NO: ZC-S0362

Size: 100T/96S

单宁含量检测试剂盒说明书

微量法

*正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

一、测定意义：

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。

二、测定原理：

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。

三、需自备的仪器和用品：

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 孔板

(ZC-1036: UV 板) 和蒸馏水。

四、试剂的组成和配置：

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	4℃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。

五、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 5000nmol/mL 标准液用提取液稀释为 6.25、3.125、1.5625、0.78625、0.4、0.2nmol/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 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{对照管}} - A_{\text{测定管}}$ ， $A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$ 。

六、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 $\Delta A_{\text{测定}}$ 带入方程中得到 x (nmol/mL)

2、单宁含量计算：

1) 按蛋白浓度计算：

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

2) 按样本鲜重计算：

单宁含量 (nmol/g 鲜重) = $x \times V_{\text{提取}} \div W = x \div W$ 。

C_{pr} ：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； $V_{\text{提取}}$ ：提取液体积，1mL。

七、注意事项：

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。