



单宁含量检测试剂盒（紫外分光光度法）

货号: R27985

规格: 50T

储存条件: 2-8℃

产品组成:

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体75mL×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: 10mg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、1mL石英比色皿、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0.1g, 加入2mL提取液(封口膜封口防止液体溅出), 于70°C水浴, 准确提取30min, 期间可摇晃数次, 最后用提取液定容至2mL。12000rpm, 25°C, 离心10min, 取上清待测。

二、测定步骤

1.紫外分光光度计预热30min, 波长调至275nm, 提取液调零。

2.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。

3.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	200	3800	25
3	25	2000	2000	12.5
4	12.5	2000	2000	6.25
5	6.25	2000	2000	3.125
6	3.125	2000	2000	1.5625
7	1.5625	2000	2000	0.78125

备注: 下述实验中每个标准管需1000uL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10-15mg	-	-	大约10-15mg
提取液	-	-	-	1mL
标准溶液	-	-	1mL	-
样本	1mL	1mL	-	-

充分混匀震荡5min, 13000g室温离心20min。取上清液测定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, nmolV/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/mmL)

2.单宁含量计算:

(1)按蛋白浓度计算

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

(2)按样本质量计算

单宁含量(nmol/g质量)= $y \cdot V_{\text{提取}} + W = 2y \div W$

C_{pr} : 样本蛋白浓度, mg/mL;

W: 样本质量, g;

$V_{\text{提取}}$: 提取液体积, 2mL。

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1.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。