单宁含量试剂盒说明书

（货号：ADS-F-KY017　分光法 48 样）

一、产品简介：

单宁是一类水溶性、分子量在 500-3000 Da 之间的酚类化合物。在植物界中广泛分布,是一种重要的次级代谢产物,也是除木质素以外含量最多的一类植物酚类物质，具有抗氧、保湿、防腐等作用。

单宁类化合物在碱性溶液中，将磷钼酸还原成蓝色化合物，于 650nm 处测定吸光值，蓝色的深浅程度与单宁含量成正比。

二、试剂盒组分与配制：

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	液体 8mL×1 瓶	4℃避光保存	
试剂二	液体 12mL×1 瓶	4℃保存	
标准品	粉剂 1 支	4℃保存	若重新做标曲，则用到该试剂

三、所需的仪器和用品：

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿（光径 1cm）、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、研钵、冰和蒸馏水。

四、单宁含量的测定：

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定，了解本批样品情况，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费！

1、样本制备：

① 组织样本：

称取约 0.1g 组织（水分充足的样本可取 0.5g），加入 1mL 蒸馏水，充分匀浆后转移到 EP 管中，80℃水浴提取 1h，12000rpm，4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

【注】：若增加样本量，可按照组织质量（g）：提取液体积(mL)为 1：5~10 的比例进行提取。

② 液体样品：

澄清的液体样本可直接检测；若浑浊可离心后取上清液检测。

2、上机检测：

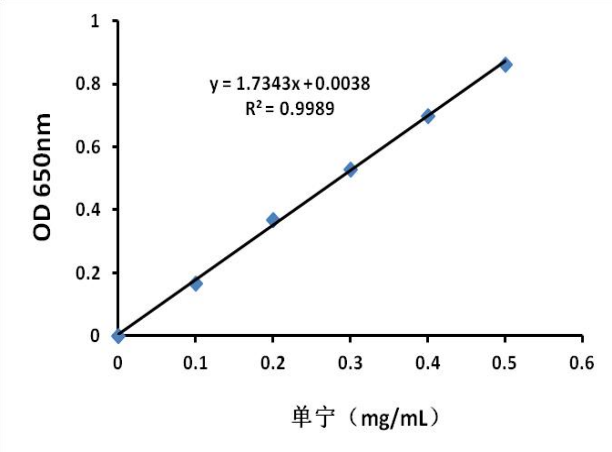
① 可见分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 650nm，蒸馏水调零。

② 在 EP 管依次加入:

试剂名称（μL）	测定管	空白管（仅做一次）
样本	40	
蒸馏水	520	560
试剂一	160	160
试剂二	240	240
充分混匀，室温静置 30min，取全部液体至 1 mL 玻璃比色皿中，于 650nm 处读取吸光值 A，ΔA= A 测定- A 空白。		

五、结果计算：

1、标准曲线方程为 y=1.7343x + 0.0038；x 为标准品浓度（mg/mL），y 为ΔA。



2、按样本重量计算：

单宁含量(mg/g 重量)=[(△A-0.0038)÷1.7343×V1]÷(W×V1÷V)×D

=0.577×(△A-0.0038)÷W×D

3、按液体体积计算：

单宁含量(mg/mL 液体)=[(△A-0.0038)÷1.7343×V1]÷V1×D=0.577×(△A-0.0038)×D

V---提取液的总体积，1mL；　　V1---加入样本体积，0.04mL；

W---样品质量，g；　　D---稀释倍数，未稀释即为 1。

附：标准曲线制作过程：

1 制备标准品母液（10mg/mL）：标准管用前甩几下或离心使粉体落入底部，再加 1mL 蒸馏水混匀溶解。

2 把母液用蒸馏水稀释成以下浓度梯度的标准品：0，0.1，0.2，0.3，0.4，0.5 mg/mL。也可根据实际样本来调整标准品浓度。

3 依据测定管的加样表操作，根据结果即可制作标准曲线。