

单宁含量试剂盒说明书

(货号: ADS-W-KY017 微板法 96 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 4mL×1 瓶	4°C避光保存	
试剂二	液体 6mL×1 瓶	4°C保存	
标准品	粉剂 1 支	4°C保存	若重新做标曲,则用到该试剂

三、所需的仪器和用品:

酶标仪、96 孔板、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°C 水浴提取 1h, 12000rpm, 4°C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 酶标仪预热 30min 以上,调节波长至 650nm。

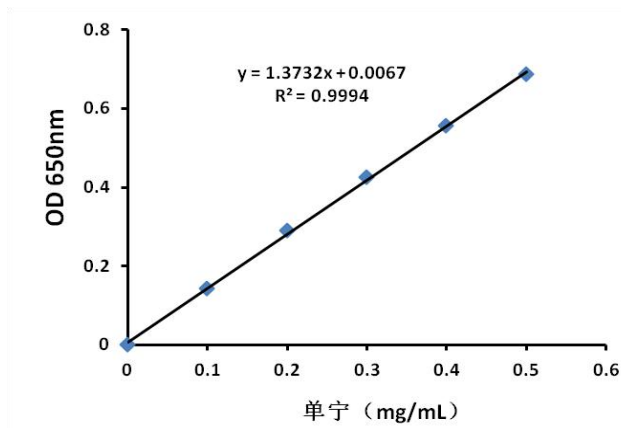
② 在 96 孔板中依次加入:

试剂名称 (μL)	测定管	空白管 (仅做一次)
样本	10	
蒸馏水	130	140
试剂一	40	40
试剂二	60	60
充分混匀,室温静置 30min,于 650nm 处读取吸光值 A, $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ 。		

【注】:试剂一和试剂二可以用排枪加。

五、结果计算:

1、标准曲线方程为 $y = 1.3732x + 0.0067$; x 为标准品浓度 (mg/mL), y 为 ΔA 。



2、按样本重量计算：

$$\begin{aligned} \text{单宁含量(mg/g 重量)} &= [(\Delta A - 0.0067) \div 1.3732 \times V1] \div (W \times V1 \div V) \times D \\ &= 0.728 \times (\Delta A - 0.0067) \div W \times D \end{aligned}$$

3、按液体体积计算：

$$\text{单宁含量(mg/mL 液体)} = [(\Delta A - 0.0067) \div 1.3732 \times V1] \div V1 \times D = 0.728 \times (\Delta A - 0.0067) \times D$$

V---提取液的总体积， 1mL；

V1---加入样本体积， 0.01mL；

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。