Beijing Solarbio Science & Technology Co., Ltd
Tel: 400-968-6088
Fax: 010-56371281
Http://www.solarbio.com

单宁含量检测试剂盒说明书

紫外分光光度法

货号：BC1390

规格：50T/48S

产品组成：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体 75 mL×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：10 mg 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。

技术指标：

最低检出限：0.385 nmol/mL

线性范围：0.39-18 nmol/mL

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℃水浴，准确提取 30min，期间可摇晃数次。12000rpm，25℃，离心 10min，取上清，用提取液定容至 2mL，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：实验中每个标准管需 1000μL 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，nmol/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/mL）。

2. 单宁含量计算：

（1）按蛋白浓度计算

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

（2）按样本质量计算

单宁含量（nmol/g 质量）=y×V提取÷W=2y÷W

Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；V提取：提取液体积，2mL。

注意事项：

1. 如果测定吸光值超过线性范围吸光值，可以增加样本量或者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。

相关系列产品：

BC1300/BC1305 铜蓝蛋白（Cp）活性检测试剂盒

BC1310/BC1315 总抗氧化能力（T-AOC）检测试剂盒

BC1360/BC1365 尿酸（UA）含量检测试剂盒