

单宁含量检测试剂盒说明书

紫外分光光度法

货号: AC10301

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, 有疑问请及时联系本公司工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体 75 mL×2 瓶	4°C保存
试剂一	粉剂×1 瓶	常温保存
标准品	粉剂×1 支	4°C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。

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、离心机、水浴锅、可调式移液器、1mL石英比色皿、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 水浴提取 30min, 期间可摇晃数次。12000rpm, 25°C, 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. 标准溶液的制备: 将5000nmol/mL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. 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 离心 20min (若上清中仍有颗粒或浑浊, 请多次离心至完全清澈)。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 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{对照管}} - A_{\text{测定管}}$, $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$ 。

三、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 ΔA 标准为y轴, 绘制标准曲线, 得到方程 $y=kx+b$, 将 ΔA 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

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

(2) 按样本质量计算

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

Cpr: 样本蛋白浓度, mg/mL (蛋白浓度需重新用PBS提取测定); W: 样本质量, g; V提取: 提取液体积, 2mL。

注意事项:

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。