

单宁含量试剂盒说明书

微量法 100 管/96 样

正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

测定意义：

单宁是一类广泛存在于植物体内的多元酚化合物，又称植物多酚。具有独特的化学性质和多种生理活性，如能与蛋白质、生物碱、多糖结合；能与多种金属离子发生络合或静电作用；具有止血、抑制微生物、抗过敏、抗突变、抗肿瘤、抗衰老等生理活性。

测定原理：

分别用酸性和碱性提取液提取样品中 NADP⁺和 NADPH。NADPH 通过 PMS 的递氢作用，使氧化型噻唑蓝 (MTT) 还原为甲瓖，570nm 下检测吸光值，从而测定 NADPH 含量。利用 6-磷酸葡萄糖脱氢酶还原 NADP⁺为 NADPH，从而检测 NADP⁺含量。

试剂的组成和配制：

产品名称	OX012-100T/96S	Storage
试剂一：液体	4ml	4°C
试剂二：液体	3ml	4°C
说明书	一份	

需自备仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、水浴锅、可调式移液器、微量石英比色皿/96 孔板、研钵和蒸馏水。

单宁的提取：

按照组织质量 (g)：蒸馏水体积(ml)为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1ml 蒸馏水），充分匀浆后转移到 EP 管中，80°C 水浴提取 30min，8000 g，25°C 离心 10 min，取上清液待测。

测定步骤：

- 1、分光光度计或酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 760nm 处，蒸馏水调零；试剂一和试剂二 37°C 预热 10min 以上；
- 2、操作表：

试剂名称 (μl)	对照管	测定管
样本		5
蒸馏水	135	130

最终解释权所有 © 伊势久 (江苏连云港) 生物科技有限责任公司，保留一切权利



试剂一	35	35
混匀，室温静置 5min:		
试剂二	30	30

混匀，室温静置 30min，760nm 处读取吸光值 A， $\Delta A = A$ 测定-A 对照，对照管只要做一管。

单宁含量计算：

a.用微量石英比色皿测定的计算公式如下：

1、标准条件下测定的回归方程为 $y = 1.6418x + 0.0134$ ；x 为标准品浓度(mg/ml)，y 为 ΔA (A 测定-A 对照)。

2、按样本鲜重计算：

$$\text{单宁含量 (mg/g 鲜重)} = [(\Delta A - 0.0134) \div 1.6418 \times V1] \div (W \times V1 \div V2) = 0.609 \times (\Delta A - 0.0134) \div W。$$

3、按样本蛋白浓度计算：

$$\text{单宁含量(mg/mg prot)} = [(\Delta A - 0.0134) \div 1.6418 \times V1] \div (V1 \times Cpr) = 0.609 \times (\Delta A - 0.0134) \div Cpr。$$

V1: 加入样本体积，0.005ml；V2: 加入提取液体积，1ml；Cpr: 样本蛋白质浓度，mg/ml；W: 样本鲜重，g。

b.用 96 孔板测定的计算公式如下：

1、标准条件下测定的回归方程为 $y = 0.8209x + 0.0134$ ；x 为标准品浓度 (mg/ml)，y 为 ΔA (A 测定-A 对照)。

2、按样本鲜重计算：

$$\text{单宁含量(mg/g 鲜重)} = [(\Delta A - 0.0134) \div 0.8209 \times V1] \div (W \times V1 \div V2) = 1.218 \times (\Delta A - 0.0134) \div W。$$

3、按样本蛋白浓度计算：

$$\text{单宁含量(mg/mg prot)} = [(\Delta A - 0.0134) \div 0.8209 \times V1] \div (V1 \times Cpr) = 1.218 \times (\Delta A - 0.0134) \div Cpr。$$

V1: 加入样本体积，0.005ml；V2: 加入提取液体积，1ml；Cpr: 样本蛋白质浓度，mg/ml；W: 样本鲜重，g。

注意：

1、 ΔA 控制在 0.02-0.5 范围内，若 ΔA 大于 0.5，将样本提取上清液用蒸馏水稀释 10 倍后检测，计算公式中乘以相应稀释倍数。

2、标准曲线线性范围为：0.025mg/ml-0.5mm;l。

