

单宁含量试剂盒说明书

(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，具有抗氧化、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℃避光保存	
试剂二	液体 6mL×1 瓶	4℃保存	
标准品	粉剂 mg×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：

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：

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、上机检测：

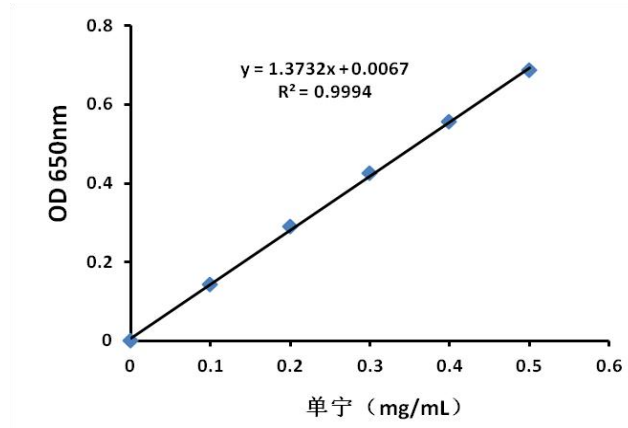
- ① 酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 650nm。
- ② 在 96 孔板中依次加入：

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：

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

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（0.5mg/mL）：标准品溶解在2mL蒸馏水中，充分混匀。
- 2 把母液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。