

高粱中单宁含量测定试剂盒说明书

(货号:G0173W96 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。

高粱中单宁含量的定量测定方法较多。本研究结合国家标准 GB/T 15686---2008,利用单宁与 Fe^{3+} 能快速反应生成稳定紫红色络合物的性质,建立了一种快速检测高粱中单宁含量的方法。

二、试剂盒的组成和配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 110mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	粉剂 mg×2 支	4℃保存	用前甩几下使试剂落入底部,每支再加 1.8mL 的蒸馏水溶解备用(一周内用完)。
试剂二	液体 μ L×1 支	4℃保存	先取一支新 EP 管,加入 1.5mL 蒸馏水,再快速取出 15 μ L 试剂二入上述 1.5mL 蒸馏水中,混匀后作为试剂二使用(共需 2 支 EP 管即可)。(一周内用完)。
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、可调式移液器、研钵、蒸馏水。

四、单宁含量测定:

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,加入 1.5mL 提取液,进行匀浆。12000rpm, 25℃离心 10min,取上清待测。

【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 525nm。

② 所有试剂解冻至室温(25℃)。

② 依次在 96 孔板中加入:

试剂名称(μ L)	测定	空白(仅做一次)
样本	25	
水	125	150
试剂一	25	25
试剂二	25	25
混匀,室温孵育 10min 后,于 525nm 读值, $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$		

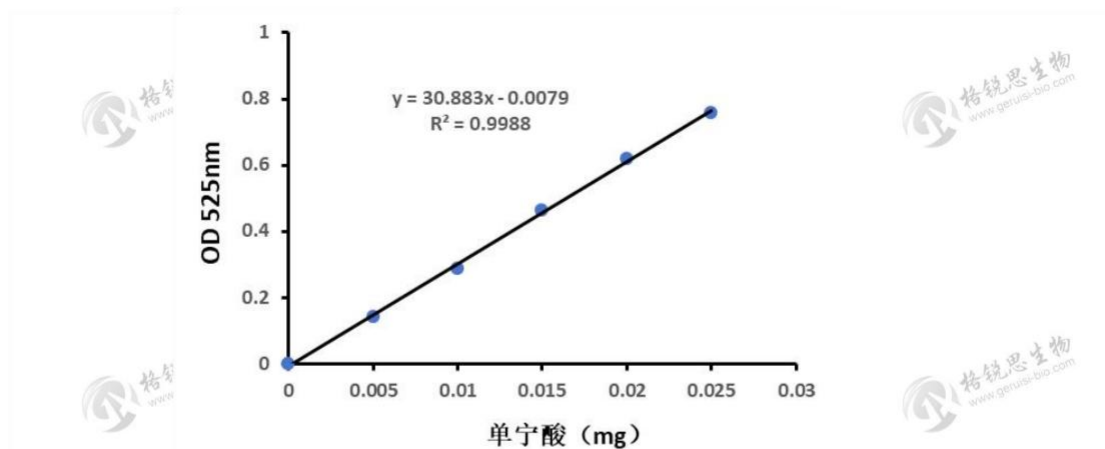
【注】1.若 ΔA 的值在零附近,可适当加大样本量 V_1 (如增至 40 μ L,则蒸馏水相应少),则改变后的加样体积 V_1 需代入计算公式重新计算。

2.若测定管太大如超过 1.5,可以对样本上清进行稀释,则稀释倍数 D 则需代入计算

公式重新计算。

五、结果计算：

1、标准曲线方程为 $y=30.883x-0.0079$ ； x 为标准品质量（mg）， y 为 ΔA 。



2、按样本重量计算：

$$\text{单宁含量(mg/g 重量)} = [(\Delta A + 0.0079) \div 30.883] \div (W \times V1 \div V) \times D$$

$$= 1.94 \times (\Delta A + 0.0079) \div W \times D$$

$$\text{单宁含量(\%)} = [(\Delta A + 0.0079) \div 30.883] \div (W \times V1 \div V) \times D \div 10$$

$$= 0.194 \times (\Delta A + 0.0079) \div W \times D$$

V---加入提取液体积，1.5 mL；

V1---加入样本体积，0.025 mL；

W---样本质量，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）：用前甩几下使试剂落入底部，加 1mL 提取液混匀溶解即 10mg/mL 的标准品母液。
- 2 把母液用提取液稀释成六个浓度梯度的标准品：0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1. mg/mL。
- 3 依据测定管的加样表操作（把样本换成各个浓度标准品），根据结果即可制作标准曲线。