

# 单宁(Tannin)含量试剂盒

## 微板法

本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断

# 使 用 说 明 书

货号: JL-T0793

有效期: 6个月

规格: 48T(42S)/96T(90S)

保存温度: 2-8°C

## 实验原理：

单宁是一类广泛分布在植物体内的水溶性、分子量在 500-3000Da 之间的酚类化合物。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。

**检测范围：0.01-0.4mg/mL      灵敏度：0.01mg/mL**

## 注意事项：

1. 不能使用过期产品,不同货号 and 批号组分不得混用。
2. 本试剂开封后请尽快使用,以免空气、采样污染引起试剂变质。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 如果可能传播疾病,所有的样品都应管理好,按照规定的程序处理样品和检测装置。
5. 试剂严格按保存条件保存,不同测试盒中的试剂不能混用。对于体积较少的试剂,使用前请先离心,以免量取不到足够量的试剂。试剂盒中如有提供粉剂,使用前请甩几下,使粉剂落入底部。

**产品组成:**

试剂名称	规格 (48T/42S)	规格 (96T/90S)	保存条件
试剂一	3mL×1 瓶	6mL×1 瓶	2-8℃, 避光
试剂二	4mL×1 瓶	8mL×1 瓶	2-8℃
标准品	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	2-8℃

**所需仪器耗材及试剂:**

离心机、酶标仪、可调式移液器、蒸馏水、水浴锅、振荡器。

## 样本处理及要求：

1. **试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围**，建议实验前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定，根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围：0.01-0.4mg/mL，如果样品中待测物浓度过高或过低，请对样本做适当的稀释或浓缩，样本的稀释液为蒸馏水。
2. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中，建议做预实验验证其检测有效性。
3. **组织样本**：按照组织质量 (g)：蒸馏水体积 (mL) 为 1: 5~10 的比例 (例如约 0.1g 组织，加入 1mL 蒸馏水) 进行冰浴匀浆，充分匀浆后转移到 EP 管中，80°C 水浴提取 30min，10000 g，25°C 离心 10min，取上清待测。
4. **血清 (浆) 等液体样本**：直接测定。若浑浊，离心后取上清检测。

## 检测前准备工作:

1. 请提前取出试剂盒，平衡至室温，
2. **标准品溶液的配制**：使用前取一瓶加 1mL 蒸馏水，配置成 10mg/mL 标准品母液，取一新 EP 管加入 20 $\mu$ L 标准品母液，再加入 980 $\mu$ L 蒸馏水，即 0.2mg/mL 的标准品溶液。把标准品溶液用蒸馏水稀释成以下浓度梯度的标准品：0mg/mL、0.02mg/mL、0.04mg/mL、0.06mg/mL、0.16mg/mL、0.2mg/mL。  
(注：配制目标浓度的标准品工作液时，每次请根据表格从标准品母液中取对应的体积与相应稀释液混合均匀后使用。)

编号	①	②	③	④	⑤	⑥
标准品浓度(mg/mL)	0	0.02	0.04	0.06	0.16	0.2
0.2mg/mL 标准品( $\mu$ L)	0	20	40	60	160	200
蒸馏水( $\mu$ L)	200	180	160	140	40	0

也可根据实际样本来调整标准品浓度。按照标准孔加样体系操作，依据结果即可制作标准曲线；本说明书中的标曲是用蒸馏水稀释得出，若选取其他稀释液可选择重做标曲。

**操作步骤:**

1. 酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 650nm。
2. 样本测定 (在 96 孔中依次加入) :

试剂名称( $\mu\text{L}$ )	标准孔	测定孔
不同浓度标准品	20	
样本		20
蒸馏水	130	130
试剂一	40	40
试剂二	60	60
充分混匀, 室温静置 30min 于 650nm 处测定各孔 OD 值。		

**注:**  $\Delta A$  控制在 0.02-0.5 范围内, 若  $\Delta A$  大于 0.5, 将样本提取上清液用蒸馏水稀释后检测, 计算公式中乘以相应稀释倍数。

**实验结果结算：**

1. **标准品拟合曲线：**  $y=ax+b$ 。

2. **按液体体积计算：**

单宁含量(mg/mL 液体)=[ $(\Delta A-b) \div a \times V_{\text{样}}$ ]  $\div V_{\text{样}} \times N = (\Delta A-b) \div a \times N$

3. **按样本鲜重计算：**

单宁含量(mg/g 鲜重)=[ $(\Delta A-b) \div a \times V_{\text{样}}$ ]  $\div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{提}}) \times N = (\Delta A-b) \div a \div W \times N$

4. **按样本蛋白浓度计算：**

单宁含量(mg/mg prot)=[ $(\Delta A-b) \div a \times V_{\text{样}}$ ]  $\div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \times N = (\Delta A-b) \div a \div C_{\text{pr}} \times N$

**注：**

y: 标准品 OD 值-空白孔 OD 值  
(标准品浓度为 0 的 OD 值)

$\Delta A$ : 测定孔 OD 值-空白孔 OD 值  
(标准品浓度为 0 的 OD 值)

a: 标曲的斜率

$V_{\text{提}}$ : 加入提取液体积, 1mL

b: 标曲的截距

$V_{\text{样}}$ : 加入样本体积, 0.02mL

x: 标准品的浓度

W: 样本质量, 0.1g

$C_{\text{pr}}$ : 样本蛋白浓度, mg/mL

N: 样本稀释倍数

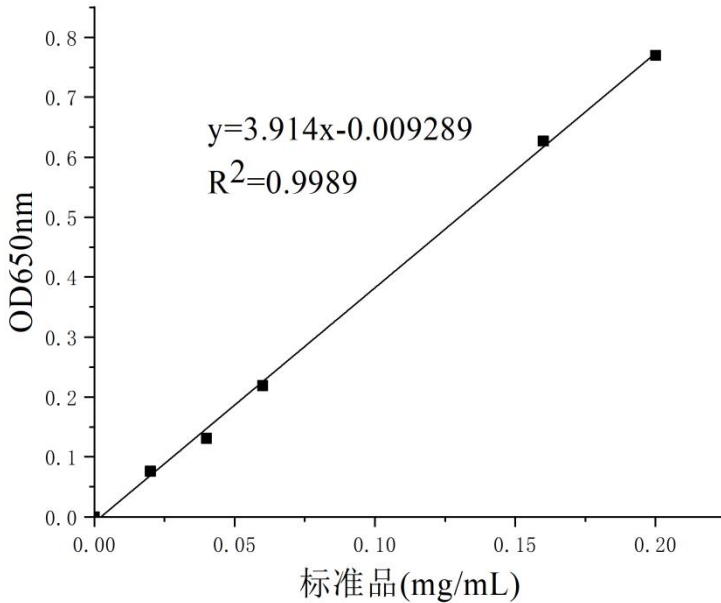
**参考样本数据：**

以下数据仅供参考：

样本类型	稀释倍数	参考值
香蕉 (10%匀浆)	不稀释	0.269mg/g
葡萄皮 (10%匀浆)	5 倍稀释	5.09mg/g
苹果 (10%匀浆)	不稀释	0.314mg/g

**参考曲线:**

$y=3.914x-0.009289, R^2=0.9989$ ,  $x$  是标准品的浓度 (mg/mL),  $y$  是 $\Delta A$ 。



注意：本图仅供参考，应以每次实验数据所绘制标准曲线计算样本含量。

**Note:**

**Note:**

**咨询电话：400-0066-400**

**传 真：021-55660885**

**电子邮箱：shjls@163.com**

**网 址：www.jonln.com**