# CheKine™ 单宁含量检测试剂盒（微量法）

货号: KTB1541　　规格: 48 T/48 S　96 T/96 S　　批号：见产品标签

| | | | |
|---|---|---|---|
| ≠ | **检测范围：**0.0156-1 mg/mL | | **灵敏度：**0.0078 mg/mL |
| | **适用样本：**植物组织、果汁和蜂蜜等液体样本 | | |
| | **保质期：**4℃，避光保存 6 个月 | | |

## 01 背景与原理

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，一般具有涩味，可使蛋白质、生物碱、多糖沉淀，能与多种金属离子发生络合或静电作用。按化学结构，单宁可分为水解单宁和缩合单宁。单宁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、抑制微生物、抗过敏、抗突变、抗肿瘤、抗衰老等生理活性，也是影响产品口感的因素之一。

本试剂盒检测原理是单宁在碱性环境下与磷钼酸反应，生成蓝色化合物，在 760 nm 处有特征吸收峰，测 760 nm 处的吸光值，即可得样品中单宁含量。

## 02 包装清单

| 试剂盒组分 | 规格 | | 储存要求 |
|---|---|---|---|
| | 48 T | 96 T | |
| **Assay Buffer** | 5 mL | 10 mL | 4℃ |
| **Chromogen** | 5 mL | 10 mL | 4℃，避光保存 |
| **Standard** | Powder×1 vial | Powder×1 vial | 4℃，避光保存 |

***请在实验前检查各组分的量。**

***各组分在规格基础上额外提供 10%的量用于进行标准曲线制作或预实验。**

## 03 自备仪器与试剂

| 自备资源类型 | 资源名称 | 备注 |
| --- | --- | --- |
| **仪器** | 酶标仪 | 能测 760 nm 处的吸光度 |
| **耗材** | 96 孔酶标板 | 普通透明板 |
| **试剂** | 去离子水 | 试剂、检测体系配制用 |
| **其他** | 匀浆器（纤维较小的植物组织）、恒温箱、水浴锅、离心机、烘箱、粉碎仪或破壁机、40 目筛（纤维较多的植物组织）、可调节式移液枪及枪头 | 检测量较大时合理使用多通道移液器有助于提高实验效率 |

## 04 注意事项

- **正式检测前，建议选择 2-3 个预期差异较大的样本进行预实验。**
- 对于组织样本及细胞样本等，可通过测定蛋白浓度来进行样本间结果均一化。推荐使用亚科因货号：KTD3001 的蛋白质定量试剂盒（BCA 法）。
- 本试剂盒兼容分光光度计检测，请按照分光光度计检测要求按比例调节检测试剂配制量。如有疑问，可咨询本司技术人员（400-6800-830）。
- 建议实验者自行建立标准曲线以提高结果准确度。如未自行建立标准曲线，可参考结果展示部分的典型标准曲线公式进行结果计算。
- 生化检测试剂普遍具有刺激性、生物毒性等，为了您的安全和健康，**请在实验全程做好生物安全防护**，穿戴实验服、口罩、手套、头套等安全护具，在通风橱、生物安全柜中进行实验。
- 本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。

## 05 实验流程

### 05-1 试剂准备

#### 05-1-1 试剂准备

| 试剂名称 | 试剂准备 | 注意事项 |
| --- | --- | --- |
| **Assay Buffer** | 即用型；使用前平衡到室温 | 4℃保存 |
| **Chromogen** | 即用型；使用前平衡到室温 | 4℃避光保存；**Chromogen 有一定的刺激性，建议在使用过程中做好个人防护** |
| **5 mg/mL Standard** | 临用前配制；临用前加入 1 mL 去离子水溶解，配制成 5 mg/mL Standard 备用 | 4℃避光保存 |

### 05-1-2 标准品配制

使用 5 mg/mL Standard，按下表所示，进行下一步稀释。每次实验都要做一次标准品检测，制作标曲；稀释后的标准品溶液不稳定，必须在 4 小时内使用。

| 序号 | 标准品（μL） | 去离子水（μL） | 浓度（mg/mL） |
|---|---|---|---|
| **1** | 200 μL of 5 mg/mL | 800 | 1 |
| **2** | 100 μL of 1 mg/mL | 100 | 0.5 |
| **3** | 100 μL of 0.5 mg/mL | 100 | 0.25 |
| **4** | 100 μL of 0.25 mg/mL | 100 | 0.125 |
| **5** | 100 μL of 0.125 mg/mL | 100 | 0.0625 |
| **6** | 100 μL of 0.0625 mg/mL | 100 | 0.0313 |
| **7** | 100 μL of 0.0313 mg/mL | 100 | 0.0156 |
| 空白 | 0 | 200 | 0 |

### 05-2 样本制备

- **植物组织**：对于纤维较少的植物组织：称取约 0.1 g 样本，加入 1 mL 去离子水，充分匀浆后转移到 EP 管中，80℃水浴提取 30 min，8000 g，室温（25℃）离心 10 min，取上清液待测；对于纤维较多的植物组织：将样本 60℃烘干至恒重，粉碎，过 40 目筛之后，称取约 0.1 g，加入 1 mL 去离子水，混匀，80℃水浴提取 30 min，8000 g，室温（25℃）离心 10 min，取上清液待测。
- **果汁或蜂蜜等液体样本**：直接检测。

### 05-3 实验步骤

1. **酶标仪准备**：预热 30 min 以上，调节波长到 760 nm。
2. **检测体系配制**：空白孔和标准孔只用测 1-2 次。在 96 孔板中按照如下方式操作：

| 试剂 | 空白孔（μL） | 标准孔（μL） | 测定孔（μL） |
|---|---|---|---|
| **去离子水** | 100 | 90 | 90 |
| **Standard** | 0 | 10 | 0 |
| **样本** | 0 | 0 | 10 |
| **Chromogen** | 50 | 50 | 50 |
| **Assay Buffer** | 50 | 50 | 50 |

3. **吸光度检测：**混匀后，室温（25℃）放置 10 min，测定 760 nm 处吸光度，分别记为 $A_{空白}$、$A_{标准}$、$A_{测定}$。

## 06 结果计算

### 06-1 自动计算

为帮助您更轻松、准确地完成相关计算，我们特在官网提供了“在线计算器小工具”。您无需手动计算，只需在网页上输入数值，即可快速获得可靠结果。访问方式：请扫描右侧**二维码**或访问官网[https://www.abbkine.cn] > 进入“**技术中心**”> 查找“**在线计算器**”**工具**。

### 06-2 手动计算

以下为您提供的推导过程计算公式和简洁计算公式，两者完全相等。

**1. 数据处理**

计算$\Delta A_{测定}=A_{测定}-A_{空白}$、$\Delta A_{标准}=A_{标准}-A_{空白}$。

**2. 标准曲线绘制**

以标准品浓度为 y 轴，$\Delta A_{标准}$为 x 轴，绘制标准曲线。将$\Delta A_{测定}$代入方程得到 y 值（mg/mL）。

**3. 样本单宁含量计算**

- 按蛋白浓度计算：

单宁含量(mg/mg prot)=$y\times V_{样}\div(Cpr\times V_{样})$**=y÷Cpr×n**

- 按样本质量计算：

单宁含量(mg/g)=$y\times V_{样}\div(W\div V_{提取}\times V_{样})$**=y÷W×n**

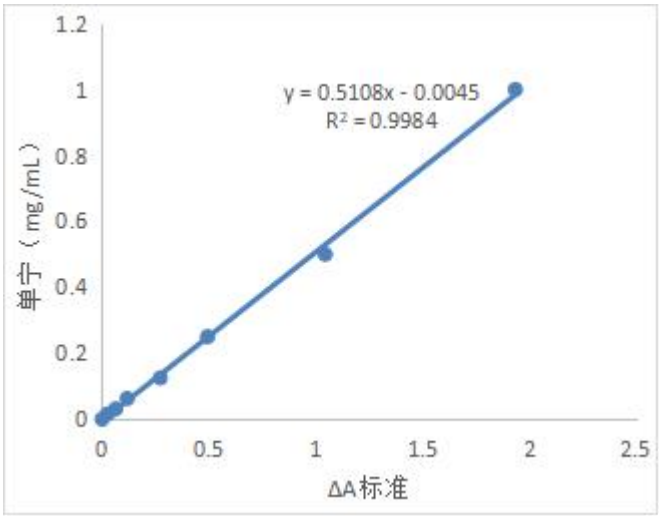
- 按样本体积计算：

单宁含量(mg/mL)**=**$y\times V_{样}\div(V_{提取}\times V_{样})$**=y×n**

$V_{样}$：液体样本加入的体积，0.01 mL；$V_{提取}$：样本提取加入去离子水体积，1 mL；W：样本质量，g；n：样本稀释倍数。

## 07 结果展示

典型标准曲线：y=0.5108x-0.0045，$R^2$=0.9984




示例-1：取 0.1 g 绿萝叶，按照测定步骤操作，用 96 孔板进行检测。测得$\Delta A_{测定}=A_{测定}-A_{空白}$=0.359-0.061=0.298，代入标准曲线，计算 y=0.148。按样本质量计算得：单宁含量(mg/g)=y÷W×n=1.48 mg/g。

## 08 FAQ

- **检测得到的样本$\Delta A_{测定}$过高或者过低怎么办?**

如果$\Delta A_{测定}$小于 0.02 可适当加大样本量。如果 $A_{测定}$大于 1 mg/mL 的$\Delta A_{标准}$，样本可用去离子水进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数，或减少提取用样本量。

## 09 相关产品

| 货号 | 试剂盒名称 |
| --- | --- |
| **KTB1540** | CheKine™ 植物总酚（TP）含量检测试剂盒（微量法） |
| **KTB1530** | CheKine™ 植物类黄酮含量检测试剂盒（微量法） |
| **KTB1520** | CheKine™ 植物原花青素（OPC）含量检测试剂盒（微量法） |

# CheKine™ 单宁含量检测流程示意图

（Abbkine 货号：KTB1541）

