

植物原花青素 (Oligomeric Proantho Cyanidins, OPC) 试剂盒说明书

微量法 100T/48S

注意：正式测定之前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定。

测定意义：

原花青素 (Oligomeric Proantho Cyanidins, OPC) 是一类黄烷醇单体及其聚合体的多酚化合物，广泛存在于植物的各种器官中，具有极强的抗氧化性和清除自由基的作用，广泛的应用于医药，食品，化妆品，保健品行业。

测定原理：

在酸性条件下，植物原花青素 A 环上的间苯二酚和间苯三酚与香草醛发生缩合反应，产生有色化合物，在 500nm 处有特征吸收峰，测定 500nm 光吸收值，可计算植物中原花青素的含量。

自备实验用品及仪器：

天平、常温离心机、可见分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96 孔板、蒸馏水、盐酸、无水乙醇和甲醇。

试剂组成和配制：

提取液：60%乙醇，自备，4℃ 保存。(60mL 无水乙醇溶于 40mL 蒸馏水)

试剂一：8%盐酸 10mL，自备，4℃ 保存。(800μL 盐酸溶于 9.2mL 甲醇)

试剂二：粉剂 0.1g×1 瓶，4℃ 避光保存，临用前加 10mL 甲醇溶解。

测定工作液：临用前按照用量将试剂一和试剂二按照 1:1 混合。

空白工作液：临用前按照用量将试剂一和甲醇按照 1:1 混合。

OPC 提取：

称取约 0.1g 样本，加入 2mL 提取液，匀浆后，60℃ 振荡提取 2h，10000g，25℃，离心 10min，取上清待测。

测定操作表：

1、分光光度计/酶标仪预热 30min，调节波长至 500nm，蒸馏水调零。

2、操作表

	对照管	测定管
样本 (μL)	40	40
测定工作液 (μL)		160
空白工作液 (μL)	160	
混匀，30℃ 水浴 30min，于微量石英比色皿/96 孔板中检测 500nm 处吸光值， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ，每个测定管设一个对照管。		

OPC 计算公式：

a. 用微量石英比色皿测定的计算公式如下

标准曲线： $y = 0.0194x + 0.0006$ ， $R^2 = 0.999$

$$\begin{aligned} \text{OPC 含量 (mg/g 鲜重)} &= (\Delta A - 0.0006) \div 0.0194 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \times 10^{-3} \\ &= 0.515 \times (\Delta A - 0.0006) \div W \end{aligned}$$

$V_{\text{样总}}$ ：加入提取液体积，2mL； $V_{\text{反总}}$ ：反应总体积，0.2mL； $V_{\text{样}}$ ：反应中样品体积，0.04mL； W ：样品质量，g

b. 用 96 孔板测定的计算公式如下

标准曲线: $y=0.0097x+0.0006$, $R^2=0.999$

$$\text{OPC 含量 (mg/g 鲜重)} = (\Delta A - 0.0006) \div 0.0097 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \times 10^{-3}$$
$$= 1.03 \times (\Delta A - 0.0006) \div W$$

$V_{\text{样总}}$: 加入提取液体积, 2mL; $V_{\text{反总}}$: 反应总体积, 0.2mL; $V_{\text{样}}$: 反应中样品体积, 0.04mL; W : 样品质量, g

注意事项:

- 1、配制好的试剂二应尽快使用, 4℃保存时间不超过一个月。
- 2、吸光度变化应该控制在 0.01~0.8 之间。否则加大样品量或稀释样品, 注意计算公式中参与计算的稀释倍数要相应改变。
- 3、最低检出限为 10 μ g/g。