

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 0.05g×1 瓶, 4℃ 避光保存, 临用前加 5mL 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: $y = 0.0194x + 0.0006$, $R^2 = 0.999$

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

$$= 0.515 \times (\Delta A - 0.0006) \div W$$

V 样总: 加入提取液体积, 2mL; V 反总: 反应总体积, 0.2mL; V 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 样总：加入提取液体积，2mL； V 反总：反应总体积，0.2mL； V 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°C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。