

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:  $y=0.0097x+0.0006$ ,  $R^2=0.999$

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

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 $\mu$ g/g。