

上海茁彩生物科技有限公司
ZCIBIO Technology Co., Ltd



生化检测原理示意图

Cat. NO: ZC-S0358

Size: 100T/48S

植物原花青素检测试剂盒说明书

微量法

*正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

一、测定意义：

原花色素 (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。

二、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。

三、需自备的仪器和用品：

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、11% 盐酸和 60%乙醇。

四、试剂的组成和配置：

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	60%乙醇, 自备	4℃保存	
试剂一	11%盐酸 8mL, 自备	4℃保存	即 2.4mL 盐酸溶于 5.6mL 蒸馏水
试剂二	粉剂×1 瓶	4℃避光保存	临用前加 8mL 提取液溶解
标准品	粉剂×1 支	4℃保存	10mg 原花青素

工作液：临用前按照用量将试剂一和试剂二按照 1:1 混合

五、操作步骤：

● OPC 提取：

将样本烘干至恒重，粉碎，过 40 目筛之后，称取约 0.1g，加入 1mL 提取液，用超声提取法进行提取，超声功率 300W，破碎 5s，间歇 8s，提取，30min，12000rpm，25℃，离心 10min，取上清，用提取液定容至 1mL，待测。

● 测定操作表：

- 1、分光光度计或酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 500nm，蒸馏水调零。
- 2、用提取液将原花青素配制成 10mg/mL 标准液，用提取液梯度稀释为 5、2.5、1.25、0.625、0.3125、0.156、0.078、0.039、0.02、0.01mg/mL 的标准溶液。
- 3、操作表

	对照管	测定管	标准管	空白管
样本 (μL)	40	40		
标准溶液 (mg/mL)			40	
工作液 (μL)		160	160	160
H ₂ O (μL)	160			40
混匀，30℃水浴 30min，立即于微量石英比色皿/96 孔板中检测 500nm 处吸光值，计算ΔA 测定=A 测定管-A 对照管，ΔA 标准=A 标准管-A 空白管。空白管只需做一管				

六、OPC 计算公式：

1、标准曲线的绘制

以ΔA 标准为 y 轴，标准溶液浓度为 x 轴，绘制标准曲线，得到方程 $y=kx+b$ 。2、OPC 的计算将ΔA 测定带入方程，得到 x (mg/mL)

● 按样本鲜重计算

$$\text{OPC 含量 (mg/g 鲜重)} = x \times V \text{ 提取} \div W = x \div W。$$

● 按样本蛋白浓度计算

$$\text{OPC 含量 (mg/mg prot)} = x \times V_{\text{提取}} \div (\text{Cpr} \times V_{\text{提取}}) = x \div \text{Cpr}$$

V 提取：加入提取液体积，1 mL； Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL； W：样品质量，g。

七、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 0.006-1.2 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。