

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。

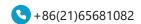
三、需自备的仪器和用品:

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°C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

OPC 含量 (mg/g 鲜重) = x×V 提取÷W=x÷W。







● 按样本蛋白浓度计算

OPC 含量 (mg/mg prot) = x × V 提取÷ (Cpr × V 提取) = x÷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。



