

上海茁彩生物科技有限公司
Shanghai zcibio technology Co., Ltd.



生化检测原理示意图

植物原花青素（OPC）含量检测试剂盒说明书

微量法

注意：正式测定之前选择2-3 个预期差异大的样本做预实验。

产品内容：

| 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 | | | |

产品说明：

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。

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、11%盐酸和 60%乙醇。

操作步骤：

一、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。

二、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。

| | 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

三. 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。

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 0.006-1.2 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。