



# 植物原花青素试剂盒说明书(精简版)

(货号: A144-1-1 Oligomeric Proantho Cyanidins, OPC 分光光度法 50T/24 样)

## 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, 可计算植物原花青素的含量。

## 三、自备实验用品及仪器。

天平、常温离心机、可见分光光度计、1 mL 玻璃比色皿、蒸馏水、盐酸、甲醇和 60% 乙醇。

## 四、试剂组成和配制(试剂盒有效期 3 个月)

**提取液:** 60% 乙醇, 自备, 4℃ 保存。(30mL 无水乙醇溶于 20mL 蒸馏水)

**试剂一:** 8% 盐酸 20mL, 自备, 4℃ 保存。(1.6mL 盐酸溶于 18.4mL 甲醇)

**试剂二:** 粉剂 0.125g×1 瓶, 4℃ 避光保存, 临用前加 12.5mL 甲醇溶解。

**标准品:** 原花青素标准品 2mg×1 支, 4℃ 保存。

**工作液:** 临用前将试剂一和试剂二按照 1:1 体积比混合, 需多少配多少。

**空白工作液:** 将试剂一和甲醇按照 1:1 体积比 混合。

## 五、OPC 提取:

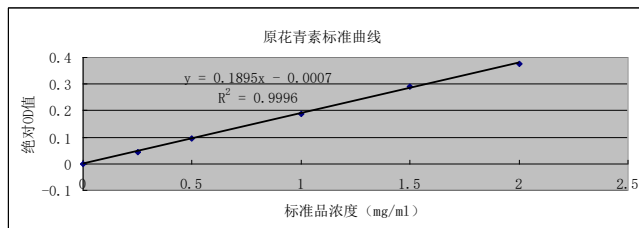
将样本烘干至恒重、粉碎、过 40 目筛, 称取约 0.1g, 加入 2mL 提取液 (鲜样可以先液氮研磨成粉再称重, 然后加提取液。或者直接称重后加提取液机械匀浆), 用超声提取法进行提取, 超声功率 300W, 破碎 5s, 间歇 8s, 提取 30 min, 然后 10000 rpm/min, 25℃ 离心 10min, 取上清待测。

## 六、测定操作表:

	对照管	测定管
样本 (μL)	200	200
工作液 (μL)		800
空白工作液 (μL)	800	
混匀, 30℃ 水浴 30min, 波长 500nm, 1mL 玻璃比色皿, 双蒸水调零, 测定各管吸光度值, 计算 $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。		

## 七、OPC 计算公式:

**标准曲线制备:** (将一支原花青素标准品用提取液 1mL 溶解, 配成 2mg/mL 标准液, 再用提取液分别稀释成 0.25mg/mL、0.5mg/mL、1 mg/mL、1.5 mg/mL 来制作标准曲线)



则计算公式为:

$$\text{原花青素含量 (mg/g组织)} = \left( \frac{\Delta A + 0.0007}{0.1895} \right) \times V_{\text{样总}} \times N \div W$$

(其中  $V_{\text{样总}}$  为加入的提取液的总体积 (1mL),  $W$  为样本质量 (g),  $N$  为样本提取后上清液测试前的稀释倍数, 上式中的

$$\frac{\Delta A + 0.0007}{0.1895} \text{ 需要用户自己制作得到, 该处仅供参考})$$

## 八、注意事项

- 1、配置好的试剂二应尽快使用, 此溶液在 4℃ 保存时间不超过一个月。
- 2、吸光度变化应该控制在 0.05-0.5 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、最低检测限为 0.1mg/mL。
- 4、花青素含量较高的有色样本相对干扰较大, 植物原花青素为无色物质。
- 5、本实验吸光值测定也可用酶标仪进行 (取 200-300μL 反应液读数), 波长不变。