

植物原花青素 (OPC) 检测试剂盒说明书

(货号: PB1018W96 微量法 96样)

有效期: 3个月

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。(120mL 无水乙醇溶于80mL 蒸馏水)

试剂一: 8%盐酸 10mL, 自备, 4℃保存。(1.6mL 盐酸溶于18.4mL 甲醇)

试剂二: 粉剂 0.2g×1 瓶, 4℃避光保存, 临用前加 20mL 双蒸水溶解。

工作液: 临用前按照用量将试剂一和试剂二按照 1:1 混合。

OPC 提取:

1. 组织: 称取约 0.1g 样本 (水分充足的样本可取 0.5g), 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。

2. 液体样品: 澄清的液体样本可直接检测; 若浑浊可离心后取上清液检测。

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
工作液 (μL)		160
双蒸水 (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: $y = 0.0194x + 0.0006$, $R^2 = 0.999$



(1) 按样本鲜重计算

$$\begin{aligned}\text{OPC 含量 (mg/g 鲜重)} &= (\Delta A - 0.0006) \div 0.0194 \div (W \div V \text{ 样总}) \times 10^{-3} \\ &= 0.103 \times (\Delta A - 0.0006) \div W\end{aligned}$$

(2) 按样本蛋白浓度计算

$$\begin{aligned}\text{OPC 含量 (mg/mg prot)} &= (\Delta A - 0.0006) \div 0.0194 \div Cpr \times 10^{-3} \\ &= 0.0515 \times (\Delta A - 0.0006) \div Cpr\end{aligned}$$

(3) 按液体计算

$$\text{OPC 含量 (mg/ml)} = (\Delta A - 0.0006) \div 0.0194 \times 10^{-3} = 0.0515 \times (\Delta A - 0.0006)$$

V 样总: 加入提取液体积, 2 mL; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; W: 样品质量, g; 10^{-3} : $1 \mu\text{g}/\text{mL} = 10^{-3} \text{ mg/mL}$ 。

b. 用 96 孔板测定的计算公式如下

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

(1) 按样本鲜重计算

$$\begin{aligned}\text{OPC 含量 (mg/g)} &= (\Delta A - 0.0006) \div 0.0097 \div (W \div V \text{ 样总}) \times 10^{-3} \\ &= 0.206 \times (\Delta A - 0.0006) \div W\end{aligned}$$

(2) 按样本蛋白浓度计算

$$\begin{aligned}\text{OPC 含量 (mg/mg prot)} &= (\Delta A - 0.0006) \div 0.0097 \times V \text{ 反总} \div (V \text{ 样} \times Cpr) \times 10^{-3} \\ &= 0.103 \times (\Delta A - 0.0006) \div Cpr\end{aligned}$$

(3) 按液体计算

$$\text{OPC 含量 (mg/ml)} = (\Delta A - 0.0006) \div 0.0097 \times 10^{-3} = 0.103 \times (\Delta A - 0.0006)$$

V 样总: 加入提取液体积, 2 mL; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; W: 样品质量, g; 10^{-3} : $1 \mu\text{g}/\text{mL} = 10^{-3} \text{ mg/mL}$ 。

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 $10 \mu\text{g/g}$ 。