

DPPH 自由基清除能力检测试剂盒 (分光光度计法)
(本试剂盒仅供科研使用)

产品包装

产品编号	产品名称	产品规格
YFX0705	DPPH 自由基清除能力检测试剂盒	50 管/24 样

产品内容

名称	规格	储存条件
提取液	液体 50mL ×1 瓶	4°C
试剂一	无水乙醇 60mL ×1 瓶, 自备。	室温
试剂二	粉剂×1 支(0.6 mL EP 管放于 8 mL 试剂瓶中), 4°C 保存。临用前加入 6.08 mL 试剂一振荡溶解, 用不完的试剂可于-20°C 保存一月, 建议分装保存; 临用前根据试验所需量按照试剂二: 试剂一 (V:V) = 4: 21 的比例配制成工作液, 现配现用, 用不完的工作液可于 4°C 保存一周。	
试剂三	粉剂×1 支, 10 mg 维生素 C, 4°C 保存。临用前加入 1 mL 提取液, 充分振荡溶解; 配成 10 mg/mL 维生素 C 溶液, 用于阳性对照。	

一、产品说明

DPPH 自由基一种很稳定的氮中心的自由基, 是样本抗氧化能力的重要指标之一, 广泛应用于抗氧化类食品、保健品及药品的研究中。

DPPH 自由基有单电子, 其醇溶液呈紫色, 在 515 nm 处有强吸收。当有抗氧化剂存在时, DPPH 自由基被清除, 其溶液颜色变浅, 515 nm 的吸光度下降, 在一定范围内其吸光度的变化与自由基被清除的程度成正比。本试剂盒中, 通过吸光度下降的程度来反映样本清除 DPPH 自由基的能力。

二、自备材料

可见分光光度计、恒温水浴锅、1 mL 玻璃比色皿、台式离心机、无水乙醇、研钵/粉碎机、烘干箱、30~50 目筛和蒸馏水。

三、样本准备:

- 1、植物样本的制备: 将新鲜样品置于 60°C 烘箱烘干至恒重, 研钵研碎 (或粉碎机粉碎) 过 30~50 目筛。称取约 0.05 g 样本, 加入 1 mL 提取液, 40°C 水浴浸提 30 min。室温 10000 rpm 离心 10 min, 取上清, 置冰上待测。
- 2、红酒、果汁等液体样本: 吸取 100 μL 样本溶液加入 900 μL 提取液, 旋涡振荡混匀, 室温 10000 rpm 离心 10 min, 取上清, 置冰上待测。
- 3、提取物或者药物: 可用提取液配制成一定浓度, 如 5 mg/mL。

四、操作步骤

正式测定前, 必需取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

- 1、分光光度计或酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 515nm, 无水乙醇调零。
- 2、阳性对照的准备: 若需要线性关系, 建议将 10 mg/mL 的维生素 C 溶液用提取液配制

成 0.3、0.25、0.125、0.0625、0.03125、0.015625 mg/mL 的维生素 C 溶液待用；若需要清除率约为 100%的阳性对照，则建议将 10 mg/mL 维生素 C 溶液用提取液配制成大于 0.3 mg/mL 的维生素 C 溶液待用。

3、操作表：在 1.5 mL EP 管中分别加入下列试剂

试剂名称 (μL)	空白管	测定管	对照管	阳性对照管
上清液		25	25	
标准溶液				25
提取液	25			
试剂一			975	
工作液	975	975		975

混匀后室温避光静置 30 min，于 515 nm 处的吸光度。空白管、阳性对照管、对照管和测定管的吸光值分别记为 A 空白、A 阳性对照、A 对照和 A 测定。空白管只需测 1-2 次。

五、计算公式

1、阳性对照的自由基清除率计算公式：

$$\text{DPPH 自由基清除率 } D_{vc}\% = [(A \text{ 空白} - A \text{ 阳性对照}) \div A \text{ 空白}] \times 100\%。$$

2、样本的自由基清除率计算公式：

$$\text{DPPH 自由基清除率 } D\% = [(A \text{ 空白} - (A \text{ 测定} - A \text{ 对照})) \div A \text{ 空白}] \times 100\%。$$

六、注意事项

1、同样本清除 DPPH 自由基的能力可能相差很大，如果要比较不同样品的 DPPH 自由基清除能力，建议对于同一批样品加入等量的样品，红酒、组织匀浆、果汁等液体样品加入同样体积，提取物（或者药物）配制成同样浓度。在比较时，将样本根据预实验结果进行适当调整，比较同样浓度（相同稀释倍数）的清除率大小。

2、不同样本清除 DPPH 自由基的能力可能相差很大，为保证实验结果的准确性，样本要根据预实验结果进行适当调整（如清除率大于 90%，建议将提取的样本用提取液进行稀释；清除率小于 5%，建议加大烘干样本质量或液体样本体积进行提取）。

3、样品建议当天提取当天检测。