

**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 自由基清除能力试剂盒 (分光光度计法)	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℃
试剂一	无水乙醇 60mL × 1 瓶 (自备)	室温
试剂二	粉剂 × 1 支: 0.6mL EP 管放于 8 mL 试剂瓶中, 临用前加入 6.08mL 试剂一振荡溶解, 用不完的试剂可于 -20℃ 保存一月, 建议分装保存。	4℃
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℃ 保存一周。		
试剂三	粉剂 × 1 支: 10mg 维生素 C, 临用前加入 1mL 提取液, 充分振荡溶解; 配成 10mg/mL 的维生素 C 溶液, 用于阳性对照。	4℃, 避光

## 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、1mL 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、样品制备

1、植物组织: 将新鲜样品置于 60℃ 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 提取液后置于 40℃ 水浴锅中浸提 30 min; 10000 rpm 室温离心 10 min, 取上清, 置于冰上待测。

2、动物组织: 收集 0.1g 组织, 加入 1.0mL 提取液, 匀浆或超声以充分破碎细胞并释放其中的抗氧化物, 4℃、10000rpm 离心 5min, 取上清待测。

3、细胞/细菌: 先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清; 按照细菌或细胞数量 (104 个): 提取液体积 (mL) 为 500~1000: 1 的比例 (建议 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液), 超声波破碎细菌或细胞 (冰浴, 功率 20% 或 200W, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次); 8000g 4℃ 离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

4、红酒、果汁等液体样本：吸取 100  $\mu$ L 样本溶液加入 900  $\mu$ L 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。

5、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、分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 515 nm，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 ( $\mu$ L)	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
试剂二		300		

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：

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：

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、不同样本清除 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、样本建议当天提取当天检测。