

## DPPH自由基清除能力检测试剂盒（微量法）

产品货号：BA1871

产品规格：100管/48样

### 产品简介：

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515nm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，515nm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。

**注意：实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。**

### 产品组成：

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体80mL×1瓶	2-8℃
试剂一	液体30mL×1瓶（自备）	室温
试剂二	粉剂×1瓶	2-8℃
试剂三	粉剂×1支	2-8℃

### 溶液的配制：

1. 试剂一：无水乙醇自备；
2. 试剂二：粉剂置于瓶内EP管中。临用前加入4.05mL试剂一振荡溶解，用不完的试剂可于-20℃保存1个月，建议分装保存，避免反复冻融；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2-8℃保存一周；
3. 试剂三：10mg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，2-8℃保存两周；用于阳性对照。

### 需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿/96孔板、恒温水浴锅、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。

### 操作步骤：

#### 一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可参考文献）

（1）植物样本的制备：将新鲜样本置于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0.05g样本，加入1mL提取液后置于40℃水浴锅中浸提30min；10000rpm室温离心10min，取上清，置于冰上待测。

（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10000rpm离心10min，取上清，置冰上待测。

（3）提取物或者药物：可用提取液配制成为一定浓度，如5mg/mL。

注意：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%，建议加大烘干干样本质量或液体样本体积进行提取）。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

## 二、测定步骤

1. 分光光度计或酶标仪预热30min以上，调节波长至515nm，分光光度计用无水乙醇调零。
2. 阳性对照的准备：若需要线性关系，建议将10mg/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、0.015625mg/mL的维生素C溶液待用，稀释可参考下表；若需要清除率约为100%的阳性对照，则建议将10mg/mL维生素C溶液用提取液配制成大于0.3mg/mL的维生素C溶液待用。

序号	稀释前浓度 (mg/mL)	试剂三体积 (μL)	提取液体积 (μL)	稀释后浓度 (mg/mL)
1	10	100	900	1
2	1	300	700	0.3
3	0.3	500	100	0.25
4	0.25	300	300	0.125
5	0.125	300	300	0.0625
6	0.0625	300	300	0.03125
7	0.03125	300	300	0.015625

备注：实验中每个标准管需10μL试剂三。

3. 操作表：在96孔板或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	-	10	10	-
试剂三	-	-	-	10
提取液	10	-	-	-
试剂一	-	-	190	-
工作液	190	190	-	190

涡旋混匀，室温避光静置30min，于515nm处的吸光度。分别记为A空白、A测定、A对照、A阳性对照。每个测定管需设一个对照管。阳性对照标准曲线和空白管只需测1-2次。

## 三、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：

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

### 注意事项：

1. 不同样本清除DPPH自由基的能力可能相差很大，如果要比较不同样本的DPPH自由基清除能力，建议对于同一批样本加入等量的样本，红酒、组织匀浆、果汁等液体样本加入同样体积，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。

### 实验实例：

1. 称取0.05g益母草叶片加入1mL提取液进行样本处理，离心取上清后按测定步骤操作，用96孔板测得A空白=1.229、A对照=0.078、A测定=0.300，根据计算公式得：

$$\text{DPPH 自由基清除率 } D\% = [(A \text{ 空白} - (A \text{ 测定} - A \text{ 对照})) \div A \text{ 空白}] \times 100\% = 81.9\%$$

2. 取100μL红酒加入900μL提取液进行样本处理，离心取上清后按测定步骤操作，用96孔板测得A空白=1.229、A对照=0.051、A测定=0.898，根据计算公式得：

$$\text{DPPH 自由基清除率 } D\% = [(A \text{ 空白} - (A \text{ 测定} - A \text{ 对照})) \div A \text{ 空白}] \times 100\% = 31.1\%$$



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

QQ：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com