

DPPH自由基清除能力检测试剂盒（可见分光光度法）

产品货号：BA1870

产品规格：50管/24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50mL×1瓶	2-8℃
试剂一	液体60mL×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6.08mL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、1mL玻璃比色皿、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100μL样本溶液加入900μL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%，建议加大烘干样本质量或液体样本体积进行提取）。

二、测定步骤

1. 分光光度计预热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。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

QQ：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

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 25μL 试剂三。

3. 操作表：在 1.5mLEP 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	-
试剂三	-	-	-	25
提取液	25	-	-	-
试剂一	-	-	975	-
工作液	975	975	-	975

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：

- 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。
- 样本建议当天提取当天检测。

实验实例：

- 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，测得 A 空白=1.037、A 对照=0.088、A 测定=0.288，根据计算公式得：
DPPH 自由基清除率 $D\% = [(A \text{ 空白} - (A \text{ 测定} - A \text{ 对照})) \div A \text{ 空白}] \times 100\% = 86.5\%$ 。
- 取 100 μL 红酒加入 900 μL 提取液进行样本处理，离心取上清后按测定步骤操作，测得 A 空白=1.037、A 对照=0.012、A 测定=0.760，根据计算公式得：
DPPH 自由基清除率 $D\% = [(A \text{ 空白} - (A \text{ 测定} - A \text{ 对照})) \div A \text{ 空白}] \times 100\% = 27.9\%$ 。
- 称取 0.05g 枸杞加入 1mL 提取液进行样本处理，离心取上清稀释 20 倍后按测定步骤操作，测得 A 空白=1.037、A 对照=0.005、A 测定=0.829，根据计算公式得：
DPPH 自由基清除率 $D\% = [(A \text{ 空白} - (A \text{ 测定} - A \text{ 对照})) \div A \text{ 空白}] \times 100\% = 20.5\%$ 。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com