



# DPPH 自由基清除能力试剂盒说明书(精简版)

(货号: A153-1-1 48T)

**免责声明:** 测试前请仔细阅读说明书,预试后再进行批量实验,否则由此导致的后果用户自行承担!

## 一、产品简介:

DPPH (1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl radical) 即 1,1-二苯基-2-苦基肼基自由基。广泛用于定量测定生物试样和食品的抗氧化能力。

此法是根据 DPPH 自由基有单电子,在 517nm 处有一强吸收,其醇溶液呈紫色的特性。当有自由基清除剂存在时,由于其单电子配对而使其吸收逐渐消失,呈现的颜色越浅,即 A 值越低,进而对样本中 DPPH 清除能力进行定量分析。

## 二、试剂组成与配置: (试剂盒有效期 3 个月)

试剂名称	规格	保存	备注
试剂一	工作液粉剂×1 瓶	4℃避光	用前甩几下使粉剂落入底部,再加入 40mL 无水乙醇充分溶解后备用(提前半小时配制);用不完的试剂 4℃避光保存
试剂二	标准品粉剂×1 支	4℃	制作标准曲线用

## 三、所需仪器和用品:

可见分光光度计、1mL 比色皿(光径 1cm)、离心机、移液器、无水甲醇、无水乙醇、蒸馏水。

## 四、实验步骤:

**操作前请仔细阅读第六点《注意事项》,了解相关注意点。**

### 1、样本前处理:

#### ① 组织样本:

称取约 0.1g 组织,剪碎,加入 1mL 的 80%甲醇溶液(或按样本重量 g: 80%甲醇溶液体积 mL 为 1:10 或 1:5 的比例加),冰水浴匀浆,12000 转/分钟,离心 10 分钟,取上清置冰上待测。

#### ② 液体样本: 直接检测,若浑浊,离心后取上清测定。

### 2、操作步骤: (EP 管中操作)

	对照管	测定管	空白管
样本 (μL)	400	400	
80%甲醇 (μL)	600		400
工作液 (μL)		600	600
混匀,室温 25℃避光静置 30min, 4000 转/分钟离心 5 分钟,波长 517nm,吸取 800μL 至比色皿中,用 80%甲醇调零,测定各管吸光度值。			

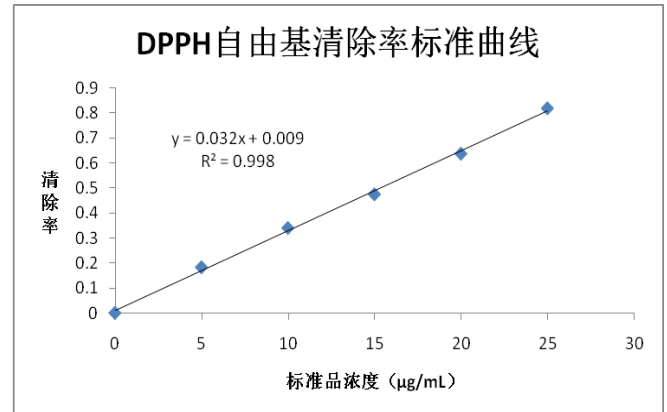
(注: 做预试时若 A 测定-A 对照接近或小于 0.05, 则需对样本进行稀释后再检测, 稀释倍数代入公式计算; 若样本较多, 建议分批次测定; 空白管只需做 1-2 个)

## 五、结果计算:

### 1、标准曲线制作:

(将标准品粉剂一支加 80%甲醇 2mL 溶解, 即为 0.5mg/mL (Trolox) 标准应用液, 再用 80%甲醇分别稀释成 5μg/mL、10μg/mL、15μg/mL、20μg/mL、25μg/mL 参照下表进行操作)

标准液浓度(μg/mL)	0	5	10	15	20	25
80%甲醇	400					
标准液 (μL)		400	400	400	400	400
工作液 (μL)	600	600	600	600	600	600
混匀, 室温 25℃避光静置 30min, 波长 517nm, 1cm 光径, 80%甲醇调零, 测定各管吸光度 A。						



2、样本 DPPH 自由基清除率 (%) =  $(1 - (A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}) \div A_{\text{空白}}) \times 100\%$ ;

标曲 DPPH 自由基清除率 (%) =  $(1 - (A(S) \div A(S_0))) \times 100\%$   
(式中 S 为各浓度标准管,  $S_0$  为标准浓度为 0 的一管)

3、定义: 用从标准曲线算得的相当于抗氧化剂 Trolox 的量来表示样本的 DPPH 自由基清除能力。

## 4、计算公式:

组织中 DPPH 自由基清除能力 (μg Trolox/g 鲜重) =  $\frac{\text{代入标准曲线得 Trolox 的浓度 (μg/mL)} \times \text{提取液总体积 (mL)}}{\text{样本鲜重 (g)} \times \text{稀释倍数}}$

液体样本 DPPH 自由基清除能力 (μg Trolox/mL) =  $\frac{\text{代入标准曲线得 Trolox 的浓度 (μg/mL)} \times \text{稀释倍数}}{\text{相当于 Trolox 的浓度 (μg/mL)}}$

## 六、注意事项:

- 1、样本测试前一定要进行预试, 一方面了解本批样品情况 (或所需稀释倍数), 否则如果清除率太大 ( $\geq 90$ ), 计算结果偏低; 另一方面也可熟悉实验流程, 避免样本与试剂的浪费;
- 2、标准曲线也可根据需要进行调整标准浓度, 上限不大于 25μg/mL;
- 3、因乙醇易挥发, 所以不建议用酶标仪来读数;
- 4、操作时应在一个通风条件良好的环境中进行, 以免吸入过量甲醇中毒;
- 5、本试剂盒仅用于科研。