

DPPH自由基清除能力检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
PMHG9-M48	DPPH自由基清除能力检测试剂盒	48T	微量法
PMHG9-M96		96T	

一、测定意义：

DPPH 自由基是一种具有单电子、稳定的、以氮为中心的顺磁化合物，其褪色程度能够反映抗氧化物质的清除能力，作为抗氧化能力的重要评价指标之一，在抗氧化类食品、保健品及药品抗氧化活性的分析和筛选过程中具有广泛应用。

二、测定原理：

DPPH 自由基具有单电子，其有机溶液呈紫色，在 515 nm 处具有特征吸收峰，当有抗氧化剂存在时，DPPH 自由基接受一个电子或氢原子，形成稳定的 DPPH-H 化合物，使溶液从紫色变为黄色，变色程度与其自由基清除活性呈定量关系，通过吸光度的变化即可表征 DPPH 自由基清除能力。

三、试剂组成：

试剂名称	试剂装量(48T)	试剂装量(96T)	保存条件
提取液	液体 60mL×1 瓶	液体 120mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	粉剂×1 瓶	粉剂×1 瓶	2-8℃避光保存
工作液的配置： 向试剂一中加入 2mL 无水乙醇（自备）超声溶解，使用前用无水乙醇（自备）稀释 50 倍，现用现配。			
标准品 (10mg)	粉剂×1 瓶	粉剂×1 瓶	2-8℃保存
标准液的配制： 使用前加入 1mL 提取液混合溶解，配制成 10mg/mL 标准液备用。			

四、操作步骤：

样本前处理

植物组织提取液的制备：取一定量植物组织擦净水分及杂质，剪碎后放入研钵，加入液氮，研磨成粉状后转移出来，然后准确称重，按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为 1：5～10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液），旋涡混匀抽提 3-5 分钟或者使用组织破碎仪冰浴提取，8000g，4℃离心 10min，取上清液置冰上待测。

测定步骤

1. 酶标仪预热 30min 以上，调节波长至515nm，蒸馏水调零；
2. 测定前将10mg/mL标准品用提取液稀释成0.3、0.25、0.125、0.0625、0.03125、0.015625mg/mL 标准液备用；
3. 操作表（在96孔板中加入以下试剂）：

试剂名称	测定管	对照管	标准管	空白管
样品（μL）	20	20	-	-
标准液（μL）	-	-	20	-
提取液（μL）	-	180	-	20
工作液（μL）	180	-	180	180
充分混匀，室温避光反应 30 min，测定 515 nm 处吸光值，记为 A _{测定} 、A _{对照} 、				

A 空白、A 标准，计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。注：空白管 2 只需测定 1-2 次。

五、DPPH 自由基清除能力计算：

1、待测样本自由基清除能力计算公式：

$$\text{DPPH 自由基清除率 (D}_{\text{样本}}\%) = (A_{\text{空白}} - \Delta A_{\text{测定}}) \div A_{\text{空白}} \times 100\%$$

2、Trolox 溶液自由基清除率计算公式：

$$\text{DPPH 自由基清除率 (D}_{\text{标准溶液}}\%) = \Delta A_{\text{标准}} \div A_{\text{空白}} \times 100\%$$

3、标准曲线的建立：

以 1.5、1.2、0.9、0.6、0.3、0.15mmol/L 标准液浓度为横坐标 (x)，以其对应的 DPPH 自由基清除率 (D_{标准溶液}%) 为纵坐标 (y)，绘制拟合曲线，即可得到线性方程 $y=kx+b$ ，将样本 DPPH 自由基清除率 (D_{样本}%) 带入公式中得到 x (mmol/L)，即为待测样本 DPPH 清除能力的标准等效量化值。

六、 注意事项：

- 1、样品提取过程建议在冰上完成操作，且提取后应当天完成测定；
- 2、若待测样本 DPPH 自由基清除率 (D_{样本}%) 大于 90%，建议将待测样本使用提取液稀释后再进行测定；若待测样本 DPPH 自由基清除率 (D_{样本}%) 小于 5%，建议适当增加烘干样本质量或液体样本体积重新提取后再进行测定，计算时相应修改；
- 3、为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。