

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-C24	DPPH自由基清除能力检测试剂盒	24T	常量法
PMHG9-C48		48T	

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(24T)	试剂装量(48T)	保存条件
提取液	液体 30mL×1 瓶	液体 60mL×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 的配制：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 支	粉剂×1 支	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 10mg/mL 标准液备用。			

四、操作步骤：

样本前处理

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）处理样品，室温研磨至匀浆，4℃ 10000 g 离心 10 min，取上清即为粗酶液，置于冰上待测。

测定步骤

- 分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 515nm，蒸馏水调零。
- 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；
- 样本测定（在玻璃比色皿中依次加入下列试剂）：

试剂名称	测定管	对照管	标准管	空白管
样本（μL）	100	100	-	-
标准液（μL）	-	-	100	-
提取液（μL）	-	900	-	100
工作液（μL）	900	-	900	900
充分混匀，室温避光反应 30 min，测定 515 nm 处吸光值，记为 $A_{\text{测定}}$ 、 $A_{\text{空白}}$ 、 $A_{\text{标准}}$ ，计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。注：空白管 2 只需测定 1-2 次。				

五、DPPH 自由基清除能力测定：

- 待测样本自由基清除能力计算公式：

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

- Trolox 溶液自由基清除率计算公式：

$$\text{DPPH 自由基清除率} (D_{\text{标准液}}\%) = \Delta A_{\text{标准}} \div A_{\text{空白}} \times 100\%$$

- 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（ $D_{\text{标准液}}\%$ ）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（ $D_{\text{样本}}\%$ ）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 ($D_{\text{样本}}\%$) 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 ($D_{\text{样本}}\%$) 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。

【厂家信息】

生产企业：南京陌凡生物科技有限公司

地址：南京市栖霞区红枫科技园 A6 栋 2 层

【售后微信】**【说明书核准及修改日期】**

核准日期：2025 年 4 月 7 日

修改日期：2025 年 4 月 7 日