

瑞得清® RadiClean®

# DPPH 總自由基清除力分析組使用說明

## DPPH Free-radical scavenging capacity Assay Kit Product Information

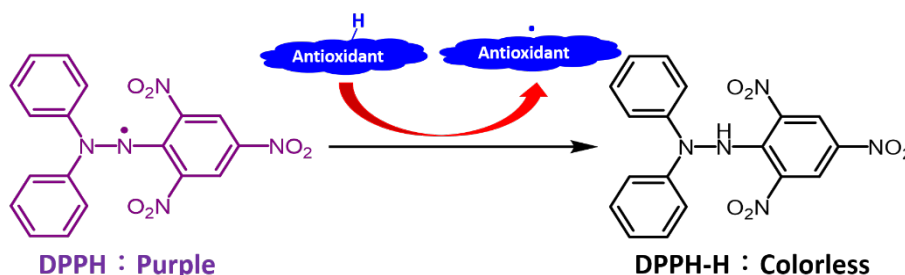
### 快速使用指引

1. 存放條件：在冷藏 4 °C 下存放。正常存放條件下，本產品可存放逾一年。
2. 可見光吸收光譜偵檢波長：517 nm。
3. 呈色劑(試藥 A)+10 mL 無水乙醇(試劑 B)=工作液。
4. Trolox 標準品(試藥 D)+ 10 mL 無水乙醇(試劑 B)=200 µg/mL Trolox 標準液。
5. 建議各溶液體積，工作液：樣品液：套組緩衝液(試劑 C) =100：20：80 µL。

### 一、產品簡介

體內的抗氧化力被視為是許多人類疾病與健康損傷的重要指標。許多的研究結果亦表明食用富含天然抗氧化劑的食品，如：蔬菜、水果、莓果與茶...等，可以降低罹患心血管疾病與癌症的風險。

本產品提供一種快速、簡單與高性價比的方式，測量以水或是醇類當溶劑之檢體溶液的抗氧化力。如下圖一，本產品中的2,2-二苯基-1-三硝基苯肼(DPPH)是一種呈紫色具穩定自由基的化合物，可做為氫自由基清除劑，在與檢體中抗氧化物反應後，產生無色的DPPH-H。藉由紫色的消失，定量517 nm吸光度的下降，便可得出檢體中的抗氧化力。本產品包含標準品Trolox，可將實驗結果對照於標準品，以計算出TEAC值(Trolox equivalent antioxidant capacity)。



圖一、DPPH套組原理說明圖

### 二、套組內容、運送與儲存：

	說明	100 tests	運送與儲存
試劑 A	DPPH 試劑	15mL 橘蓋尖底離心管(黑色袋中) X1	室溫運送 4°C儲存
試劑 B	無水乙醇溶劑	30 mL 半透明塑膠瓶 X1	
試劑 C	套組緩衝液	15 mL 半透明塑膠瓶 X1	
試劑 D	Trolox 標準品	15 mL 藍蓋尖底離心管(黑色袋中) X1	

### 三、產品使用步驟：

#### 1. 準備 DPPH 工作液：

- 1.1 將套組自冰箱取出後，回復至室溫。
- 1.2 取出黑色袋中之橘蓋 DPPH 離心管(試劑 A)，加入無水乙醇(試劑 B) 5 mL，震盪使 DPPH 完全溶解(可使用超音波震盪加快速度)。待完全溶解後，繼續加入無水乙醇(試劑 B)，使最後溶液的總體積為 10.00 mL。
- <注意>必須確定 DPPH 完全溶解，DPPH 溶解不完全會導致錯誤的測量結果。
- <注意>DPPH 工作液儘量當天使用完畢。若使用不完，請在-20℃下避光保存，並儘速用完。請勿交叉使用時間間隔太久所測量的兩次數據。

#### 2. 準備 Trolox 標準液(200 µg/mL)：

- 2.1 將套組自冰箱取出後，回復至室溫。
- 2.2 取出藍蓋 Trolox 標準品離心管(試劑 D)，加入無水乙醇(試劑 B) 5 mL，震盪使 Trolox 完全溶解。待完全溶解後，繼續加入無水乙醇(試劑 B)，使最後溶液的總體積為 10.00 mL (200 µg/mL)。
- 2.3 參照下表，梯度稀釋 Trolox 標準液：

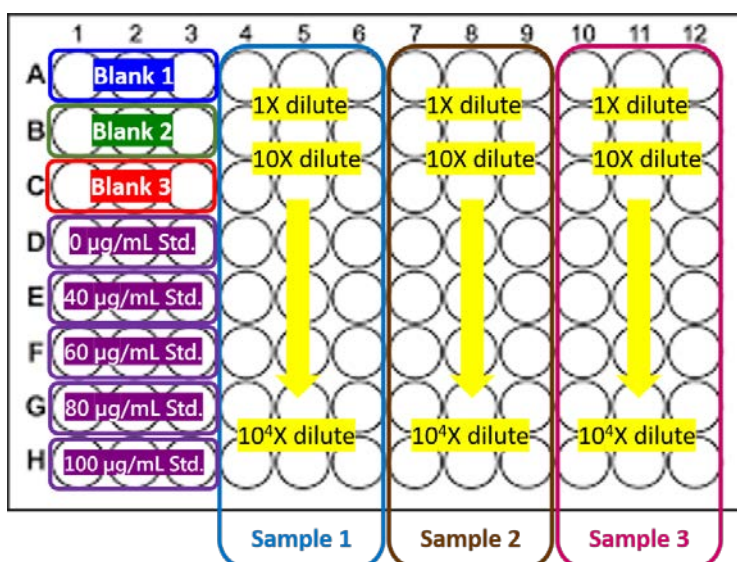
最後濃度 (µg/mL)	200 µg/mL Trolox 溶液體積(試劑 D) (µL)	無水乙醇(試劑 B)體積 (µL)
200	1000	0
160	800	200
120	600	400
80	400	600
0	0	1000

<注意>200 µg/mL Trolox 請儘速使用完畢。若使用不完，請在-20℃下避光保存。

#### 3. 進行實驗：

(µL)	Sample	Trolox Std.	Blank1	Blank2	Blank3
待測樣品	20	--	--	--	--
樣品溶劑	--	--	20	20	--
無水乙醇(試劑 B)	--	--	--	100	120
Trolox 標準液	--	20	--	--	--
套組緩衝液(試劑 C)	80	80	80	80	80
DPPH 工作液	100	100	100	--	--

<注意>Blank 1 表示無抗氧化物空白試驗；Blank 2 表示待測樣品所使用的溶劑之空白試驗；Blank 3 表示溶劑皆為無水乙醇之空白試驗。



圖二 96 孔盤孔位設計建議

### 3.1 添加藥劑：

3.1.1 分別在標準品孔位，添加 20 µL 的 0、40、60、80、100 µg/mL 等不同濃度 Trolox 標準液。

3.1.2 分別在待測樣品孔位，添加 20 µL 不同稀釋比例的待測樣品液。

<注意>若不熟悉待測樣品，建議先進行先行試驗，將稀釋比例拉大至，在確定 50%DPPH(IC<sub>50</sub>) 反應完全所在的級距後，在進一步縮小稀釋倍率範圍，以求得更精確的數值。例如，先做一遍 1~10,000 倍，求出 IC<sub>50</sub> 所在級距，再做一次較小範圍的測量。

3.1.3 添加 20 µL 的待測樣品溶劑於 Blank 1 和 Blank 2 孔位。

添加 20 µL 的無水乙醇(試劑 B)於 Blank 3 孔位。

<注意>所使用的待測樣品溶劑與無水乙醇，屬於高揮發性溶劑，請快速進行下列步驟 3.1.4，以避免溶劑揮發，影響測量結果。

3.1.4 添加 80 µL 套組緩衝溶液(試劑 C)於每一個孔位。

3.1.5 添加 100 µL 的無水乙醇(試劑 B)於 Blank 2 與 Blank 3 孔位，並反覆抽吸三次，以均勻混合。

3.1.6 添加 100 µL 的 DPPH 工作液於 Sample、Trolox Std.、Blank 1 孔位，並反覆抽吸三次，以均勻混合。

3.1.7 在室溫避光下呈色，反應時間 30 分鐘。

3.1.8 以孔盤可見光光譜儀，測量所有孔位之 OD<sub>517</sub> 值。

### 3.2 計算與作圖：

3.2.1 標準品 Trolox 抑制率(%)計算

$$\text{Inhibition ratio of Trolox (\%)} = (A_{TB} - A_T) / A_{TB} \times 100$$

A<sub>TB</sub>：濃度為 0 µg/mL 的 Trolox 標準液吸光值—Blank 3 吸光值。

A<sub>T</sub>：各濃度為 40、60、80 與 100 µg/mL 的 Trolox 標準液吸光值—Blank 3 吸光值。

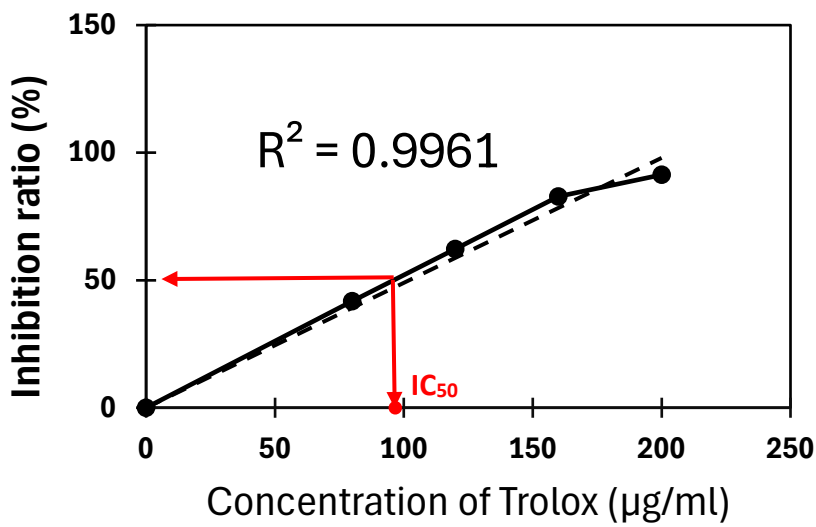
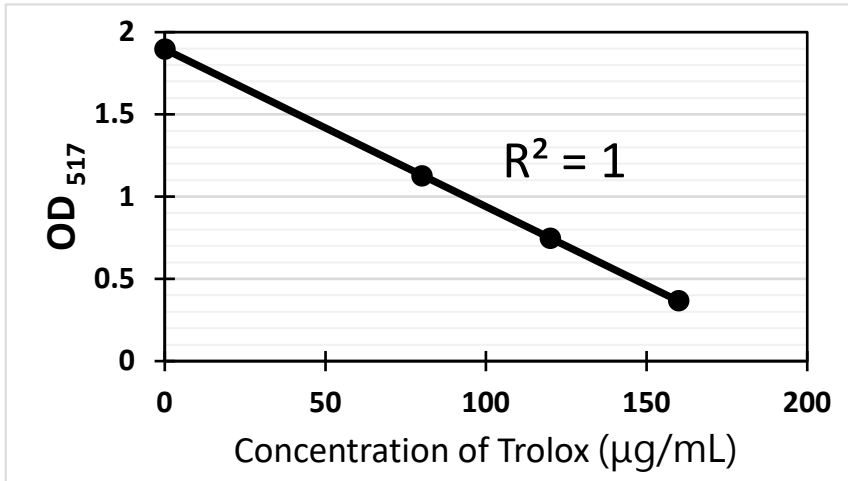
3.2.2 待測樣品抑制率(%)計算

$$\text{Inhibition ratio of Sample (\%)} = (A_{SB} - A_S) / A_{SB} \times 100$$

A<sub>SB</sub>：Blank 1 吸光值—Blank 2 吸光值。

A<sub>T</sub>：各濃度待測物溶液吸光值—Blank 2 吸光值。

3.2.3 將計算結果作圖如下，分別計算出樣品與標準品的 IC<sub>50</sub>：



3.2.4 待測物 TEAC 值計算：

$$TEAC = IC_{50}(\text{Trolox}) / IC_{50}(\text{sample})$$

\*感謝國立台東大學協助本產品測試。

\*感謝國立中山大學協助本產品測試。

聚創新材料股份有限公司

IMT FORMOSA New Materials Co., Ltd.

電話 Phone: 0926-159317

電郵 Email: [polycreatives@outlook.com](mailto:polycreatives@outlook.com)

聯絡人 Contact: Peter Hsu

