

## DPPH 自由基清除率检测试剂盒(微板法)

产品货号: BA1846

产品规格: 100T

### 产品简介:

在生命活动的代谢过程中不断产生各种自由基,而自由基的积累会使机体产生氧化损伤而引起衰老、肿瘤、中风、心肌炎和糖尿病等慢性疾病,在众多自由基中 2,2-二苯基-1-苦基苯肼(DPPH)是一种较稳定的自由基,当有自由基清除剂存在时颜色由紫色向黄色转变,吸光度随之变小。

尚宝生物 DPPH 自由基清除率检测试剂盒(微板法)又称氮自由基清除能力检测试剂盒或氮自由基清除率检测试剂盒,其检测原理是 DPPH 自由基是一种较稳定的含氮自由基,含一个单电子,溶于乙醇后溶液呈紫色,在 517nm 下有强吸收,如果有其他物质提供一个电子与此单电子配对,溶液会褪色,褪色程度与接受电子的量成正比,通过吸光度下降的程度来反应样品的氮自由基清除能力,主要用于检测血清、植物组织、抗氧化类食品、保健品及药品等样本。该试剂盒仅用于科研领域,不适用于临床诊断或其他用途。

### 产品组成:

产品名称	100T	保存条件
试剂(A): 氮自由基提取液	100ml	2-8℃
试剂(B): DPPH 溶液	50ml	2-8℃, 避光
试剂(C): 维生素 C	10mg	2-8℃

### 自备材料:

1. 蒸馏水、无水乙醇
2. 实验材料: 植物组织(芹菜、绿豆、玉米等叶片)、血液、组织样本等
3. 研钵或匀浆器或粉碎机或超声破碎机
4. 离心机、离心管
5. 恒温水浴锅、恒温干燥箱
6. 电子天平、30~50 目筛
7. 酶标仪、96 孔板

### 操作步骤(仅供参考):

#### 1. 准备样品:

- ①植物样品: 取新鲜植物样本,清洗干净,研钵研碎(粉碎),干燥箱烘干后过筛,称取 0.05g 样品,加入 0.8ml 氮自由基提取液,40℃ 水浴浸提 30~60min,10000rpm 离心 10min,上清液待用,4℃ 保存备用(亦可参考相关资料提取方法提取)。
- ②血浆、血清和尿液样品: 血浆(用肝素或枸橼酸钠抗凝,不宜使用 EDTA 抗凝)4℃ 5000rpm 离心 10min,取上清液待用;血清或尿液样品可直接测定。
- ③细胞样品: 按每  $5 \times 10^6$  个细胞加入 0.8ml 氮自由基提取液,超声破碎(功率 200W,超声 3s,间隔 10s,重复 30 次),10000rpm 离心 10min,取上清液待用。
- ④果汁、葡萄酒等样品: 按样品: 氮自由基提取液=1: 9 的比例震荡混匀,10000rpm 离心 10min,上清液待用,4℃ 保存备用。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话:400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

⑤高活性样品：如果样品中有效浓度较高，可用提取液进行恰当的稀释。

2. 配制维生素 C 溶液：将一支 10mg 维生素 C 充分溶解于 1ml 氮自由基提取液中，即成 10mg/ml 维生素 C 溶液；可分成 0.1ml 的小份，-20℃ 保存。
3. 配制 Vc 标准工作液：如需测线性关系，建议用氮自由基提取液将 10mg/ml 维生素 C 溶液稀释至 20、15、10、8、6、4、2μg/ml 的 Vc 标准工作液；如需清除率约为 100% 的阳性对照，建议选用大于 30μg/ml 的 Vc 标准工作液。
4. 酶标仪开机预热 30min，调节波长 517nm(500~530nm 亦可)，无水乙醇调零。
5. DPPH 加样：按照下表设置空白管、样本测定管、样本对照管、阳性对照管，溶液应按照顺序依次加入，混匀，室温避光静置 30min。

加入物 (ml)	空白管	样本测定管	样本对照管	阳性对照管 (标准管)
氮自由基提取液	0.05	-	-	-
上清液	-	0.05	0.05	-
Vc 标准工作液	-	-	-	0.05
无水乙醇	-	-	0.45	-
DPPH 溶液	0.45	0.45	-	0.45

6. OD 值测定：取 96 孔板，将各管溶液依次吸取 300ul 加至 96 孔板中，用酶标仪检测各管吸光度值，依次记为 A0、A1、A2、A3。

#### 计算：

阳性对照·DPPH 清除率(%)= (A0- A3)/A0×100%

待测样本·DPPH 清除率(%)=[A0-( A1- A2)]/A0×100%

备注：A0=空白管的吸光度值

A1=样本测定管的吸光度值

A2=样本对照管的吸光度值

A3=阳性对照管的吸光度值

#### 注意事项：

1. 正式测定之前建议选择 2~3 个预期差异较大的样本做预实验。
2. 实验材料应尽量新鲜，当天提取当天测定。
3. 不同样本清除 DPPH 自由基的能力差异很大。
4. 如样本 DPPH 清除率大于 90%，应用提取液稀释；如样本 DPPH 清除率小于 5%，应提高样本用量以提高有效成分浓度。
5. 样品中不宜添加 Triton、DTT 等可能影响氧化还原反应的成分。
6. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

**有效期：**6 个月有效；4℃ 运输，4℃ 保存。



扫一扫 加微信

**上海尚宝生物科技有限公司**

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com