

## 总抗氧化能力（DPPH法）测试盒（可见分光光度法）

注意：正式测定之前选择2-3个预期差异大的样本做预测定。

产品货号：BA2619

产品规格：50管/48样

### 研究意义：

测定对象中各种抗氧化物质和抗氧化酶等构成总抗氧化水平。在生物学、医学和药学研究中常常检测血浆、血清、唾液、尿液等各种体液，细胞或组织等裂解液、植物或中草药抽提液及各种抗氧化物(antioxidant)溶液的总抗氧化能力。

### 测定原理：

DPPH为稳定的自由基，溶于甲醇、乙醇等极性溶剂中，在515nm处有最大吸收。向DPPH溶液中加入抗氧化剂时，会发生脱色反应，因此可用吸光度的变化并以Trolox作为对照体系量化抗氧化物质的抗氧化能力。

### 自备实验用品：

恒温水浴锅、低温离心机、分光光度计、1mL玻璃比色皿和蒸馏水。

### 试剂组成和配制：

提取液：液体60mL×1瓶，4°C保存，使用前预冷。

试剂一：液体60mL×1瓶，4°C避光保存。

### 样品的制备：

(1) 血清、血浆、唾液或尿液等液体样品

血浆（制备时可以使用肝素或柠檬酸钠抗凝，不宜使用EDTA抗凝）4°C，5000rpm离心10min，取上清待测。血清、唾液或尿液样品直接用于测定，也可以-80°C冻存（不宜超过30d）后再测定。

(2) 组织样品

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）进行冰浴匀浆，然后10000g，4°C离心10min，取上清，置冰上待测。

(3) 细胞样品

按照细胞数量（10<sup>4</sup>个）：提取液体积（mL）为500~1000：1的比例（建议500万细胞加入1mL提取液），冰浴超声波破碎（功率200W，超声3s，间隔10s，重复30次）；10000g，4°C离心10min，取上清，置冰上待测。

### 操作步骤：

1. 分光光度计预热 30min，调节波长至 515nm。
2. 操作表（在 EP 管中反应）

	空白管	测定管
提取液（ $\mu\text{L}$ ）	50	
样品（ $\mu\text{L}$ ）		50
试剂一（ $\mu\text{L}$ ）	950	950
充分混匀，室温避光反应20min，于1mL玻璃比色皿测定515nm吸光值， $\Delta A = A_{\text{空白}} - A_{\text{测定}}$ 。		

注意：空白管只需测定一次。



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

### 总抗氧化能力计算公式:

1. 以自由基清除率表示:

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

2. 以标准曲线上获得的抗氧化剂 Trolox 的量表示:

$$\text{标准曲线: } y = 1.4144x - 0.0081 \quad R^2 = 0.9977$$

$$x: \text{ Trolox 浓度} (\mu\text{mol/mL}) \quad y: \text{ 吸光值差值 } \Delta A$$

单位定义: 用从标准曲线上获得的抗氧化剂 Trolox 的量来表示样本的 DPPH 自由基清除能力。

(1) 按样本质量计算

$$\begin{aligned} \text{总抗氧化能力} (\mu\text{mol Trolox/g 鲜重}) &= (\Delta A + 0.0081) \div 1.4144 \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} + V_{\text{样总}} \times W) \\ &= 0.707 \times (\Delta A + 0.0081) \div W \end{aligned}$$

(2) 按样本蛋白浓度计算

$$\begin{aligned} \text{总抗氧化能力} (\mu\text{mol Trolox/mg prot}) &= (\Delta A + 0.0081) \div 1.4144 \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} + V_{\text{样总}} \times \text{Cpr}) \\ &= 0.707 \times (\Delta A + 0.0081) \div \text{Cpr} \end{aligned}$$

(3) 按细胞计算

$$\begin{aligned} \text{总抗氧化能力} (\mu\text{mol Trolox}/10^4 \text{ cell}) &= (\Delta A + 0.0081) \div 1.4144 \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} + V_{\text{样总}} \times \text{细胞数量 (万个)}) \\ &= 0.707 \times (\Delta A + 0.0081) \div \text{细胞数量 (万个)} \end{aligned}$$

(4) 按液体体积计算

$$\begin{aligned} \text{总抗氧化能力} (\mu\text{mol Trolox/mL}) &= (\Delta A + 0.0081) \div 1.4144 \\ &= 0.707 \times (\Delta A + 0.0081) \end{aligned}$$

V<sub>样总</sub>: 加入提取液体积, 1 mL; V<sub>样</sub>: 反应中样品体积, 50 μL; W: 样品质量, g; Cpr: 样本蛋白浓度, mg/mL。

### 注意事项:

1. 尽量避免使用在酸性条件下呈红色或接近红色的试剂, 否则对本试剂盒的检测结果产生干扰。
2. 样品中不宜添加 Tween、Triton 和 NP-40 等去垢剂和 DTT、巯基乙醇等影响氧化还原反应的还原剂。
3. 若液体样本为碱性, 需要用提取液稀释至酸性后再检测。



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>