

DPPH清除能力检测试剂盒(微板法)

产品货号: BA3624

产品规格: 96T

产品简介:

DPPH (1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl radical) 即1,1-二苯基-2-苦基肼基自由基, 是一种很稳定的氮中心的自由基。DPPH是样本抗氧化能力的重要指标之一, 广泛用于定量测定生物试样和食品的抗氧化能力。

本产品是根据DPPH自由基有单电子, 在517nm处有一强吸收, 其醇溶液呈紫色的特性。当有自由基清除剂存在时, 由于与其单电子配对而使其吸收逐渐消失, 呈现的颜色越浅, 即吸光值越低, 进而对样本中DPPH清除能力进行定量分析。

产品组成:

试剂名称	规格	保存条件	备注
试剂一	粉末×2支	2-8℃, 避光	工作液配制: 取一支试剂一, 临用前甩几下使试剂落入底部, 加入0.5mL无水乙醇溶解, 然后全部液体转移至棕色空瓶中(建议多次涮洗试剂一粉末, 可重复3~5次); 向棕色瓶中继续加入无水乙醇, 至总体积12.5mL, 配置成工作液待用。用不完的试剂4℃避光保存。
标准品	粉末×1支	2-8℃	若重新做标曲, 则用到该试剂
空瓶子(棕色)	15mL×2个		
96孔酶标板	1个		自备

操作步骤(仅供参考):

建议正式实验前, 选取2个样本做预测定, 了解实验样品情况, 熟悉流程, 避免样本和试剂浪费!

一、样本准备:

1. 组织样本:

- 称取约0.1g新鲜组织或者称取约0.05g烘干样本(将样本在105℃下杀青3min, 然后60℃烘干至恒重, 粉碎, 过40目筛, 得到烘干样本), 加入1mL的80%甲醇提取液(若鲜样需研磨均质), 于60℃, 200-300W条件下超声提取30min(间隔5min振荡混匀一次); 若有损失需用80%甲醇定容至1mL;
- 12000rpm, 室温离心10min, 取上清待测。

【注】: 若增加样本量, 可按照组织质量(g):提取液体积(mL)为1:5~10的比例提取。

2. 细菌/细胞样本:

- 收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清;
- 取约 5×10^6 个细菌或细胞加入加入1mL 80%甲醇提取液, 超声波破碎细菌或细胞(冰浴, 功率20%或200W, 超声3s, 间隔10s, 重复30次);
- 12000rpm, 室温离心10min, 取上清测定。

【注】: 若增加样本量, 可按每 $0.5 \sim 1 \times 10^7$ 个细菌/细胞数量加入1mL提取液的比例进行提取。

3. 液体样本: 澄清的液体可直接检测; 若浑浊则离心后取上清液检测。

二、样品测定:

- 酶标仪预热30min, 设定波长到517nm。
- 不同样本清除能力不一, 可先选取2个样本做检测, 若A测定-A对照接近零, 需对样本进行稀释(用80%甲醇提取



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

液稀释)后再检测，稀释倍数 D 代入公式计算。

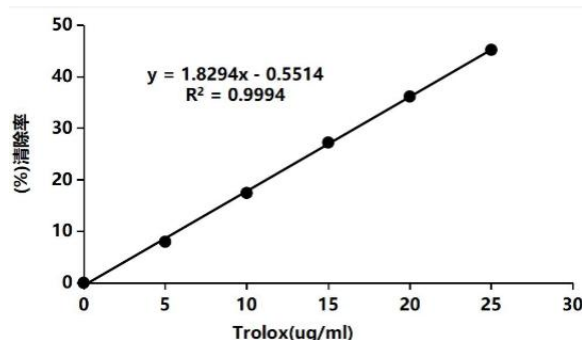
3. 在离心管中依次加入：

试剂名称 (μL)	测定管	对照管	空白管
样本	150	150	-
80%甲醇	-	150	150
工作液	150	-	150
混匀，室温(25°C)避光静置 30min，12000rpm，室温离心 5min，取 200μL 至 96 孔板中，于 517nm 处读取吸光值 A。			

【注】：若一次性样本较多，可用排枪或者分批检测，以使测定管的反应时间(避光静置 30min)保持一致。

三、结果计算：

1. 标准曲线： $y = 1.8294x - 0.5514$ ； x 是标准品 Trolox 浓度(μg/mL)， y 是清除率(%)。



2. DPPH 自由基清除率(%) = $[(1 - (A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}) \div A_{\text{空白}}) \times 100]\%$
 3. 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。
 4. 按照样本质量计算：

$$\text{DPPH 自由基清除能力}(\mu\text{g Trolox/g 鲜重}) = [(清除率 + 0.5514) \div 1.8294 \times V_1] \div (V_1 \div V \times W) \times D$$

$$= 0.547 \times (清除率 + 0.5514) \div W \times D$$

举例：若清除率是 70%，则用 70 代入公式计算，即：

$$\text{DPPH 自由基清除能力}(\mu\text{g Trolox/g 鲜重}) = [(70 + 0.5514) \div 1.8294 \times V_1] \div (V_1 \div V \times W) \times D$$

5. 按照细菌/细胞计算：

$$\text{DPPH 自由基清除能力}(\mu\text{g Trolox}/10^4 \text{ cell}) = [(清除率 + 0.5514) \div 1.8294 \times V_1] \div (V_1 \div V \times 500) \times D$$

$$= 0.547 \times (清除率 + 0.5514) \div 500 \times D$$

举例：若清除率是 70%，则用 70 代入公式计算，即：

$$\text{DPPH 自由基清除能力}(\mu\text{g Trolox}/10^4 \text{ cell}) = [(70 + 0.5514) \div 1.8294 \times V_1] \div (V_1 \div V \times 500) \times D$$

6. 液体样本：

$$\text{DPPH 自由基清除能力}(\mu\text{g Trolox/mL}) = [(清除率 + 0.5514) \div 1.8294 \times V_1] \div V_1 \times D$$

$$= 0.547 \times (清除率 + 0.5514) \times D$$

举例：若清除率是 70%，则用 70 代入公式计算，即：

$$\text{DPPH 自由基清除能力}(\mu\text{g Trolox/mL}) = [(70 + 0.5514) \div 1.8294 \times V_1] \div V_1 \times D$$

V---加入提取液体积，1mL； V₁---反应中样品体积，150μL=0.15ml

W---样品质量，g； D---稀释倍数，未稀释即为 1；

Trolox 分子量---250.29； 500---细胞数量，万



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

附：标准曲线制作过程：

1. 制备标准品母液(1mg/mL)：称取 2mg 标准品即 Trolox 至离心管，加入 2mL 的甲醇，充分溶解混匀。
2. 把母液用甲醇稀释成以下浓度梯度的标准品：0、5、10、15、20、25 μ g/mL。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
3. 按照测定管的加样体系操作，根据结果即可制作标准曲线。

注意事项：

1. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。
2. 试剂开封后请尽快使用，以防影响后续实验效果。
3. 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：

低温运输，2-8 $^{\circ}$ C保存，6 个月有效。



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>