

DPPH Scavenging Capacity Assay Kit

DPPH 清除能力检测试剂盒 分光法

产品编号	产品名称	规格
BL897A	DPPH清除能力检测试剂盒 分光法	48T

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	保存要求	备注
试剂一	粉末×2 支	4℃保存	用前用几下 EP 管使试剂落入底部, 向一支 EP 管中加入 0.5mL 无水乙醇溶解后全部转移至一个棕色空瓶中, 再向该 EP 管中加入 0.5mL 无水乙醇涮洗后全部转移至该棕色瓶中(可分别再用 0.5ml 无水乙醇涮洗该 EP 管 2 次), 最后再加 17mL 无水乙醇至该棕瓶中混匀做为工作液待用(总体积为 19mL);用不完的试剂 4℃避光保存(配制好的工作液最好一个月内用完)
工作液	空瓶×2 瓶	4℃避光保存	
标准品	粉末×1 支	4℃保存	若重新做标曲, 则用到该试剂

使用方法:

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:

- (a) 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;

- (b) 12000rpm, 室温离心 10min, 取上清测定。

【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:

- (a) 收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清;

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.
注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。



- (b) 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）；
(c) 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

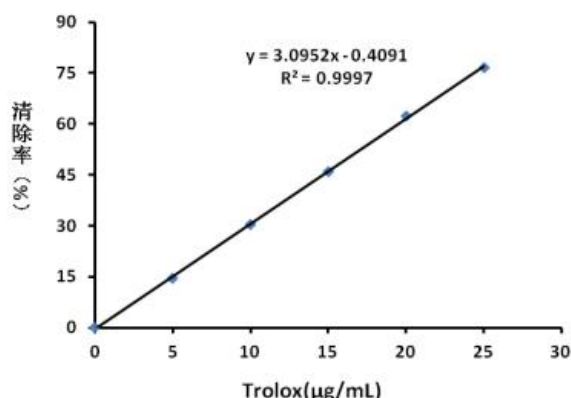
1. 可见分光光度计预热 30min，设定波长到 517nm，无水乙醇调零。
2. 不同样本清除能力不一，可先选取 2 个样本做检测，若 A 测定-A 对照接近零，需对样本进行稀释（用 80% 甲醇提取液稀释）后再检测，稀释倍数 D 代入公式计算。
3. 在离心管中依次加入：

试剂名称 (μL)	测定管	对照管	空白管
样本	400	400	-
80% 甲醇	-	600	400
工作液	600	-	600
混匀，室温(25℃)避光静置 30min，12000rpm，室温离心 5min，取 800μL 至玻璃比色皿（光径 1cm）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： $y = 3.0952x - 0.4091$ ；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：

$$\text{DPPH 自由基清除能力}(\mu\text{g Trolox/g 鲜重}) = [(清除率 + 0.4091) \div 3.0952 \times V_1] \div (V_1 \div V \times W) \times D \\ = 0.323 \times (清除率 + 0.4091) \div W \times D$$

举例：若清除率是 70%，则用 70 代入公式计算，即：

$$\text{DPPH 自由基清除能力}(\mu\text{g Trolox/g 鲜重}) = [(70 + 0.4091) \div 3.0952 \times V_1] \div (V_1 \div V \times W) \times D$$

5. 按细菌/细胞计算：

$$\text{DPPH 自由基清除能力}(\mu\text{g Trolox}/10^4 \text{ cell}) = [(清除率 - 0.7084) \div 2.8486 \times V_1] \div (V_1 \div V \times 500) \times D \\ = 0.0007 \times (清除率 - 0.7084) \div 500 \times D$$

举例：若清除率是 70%，则用 70 代入公式计算，即：

$$\text{DPPH 自由基清除能力}(\mu\text{g Trolox/g 鲜重}) = [(70 - 0.7084) \div 2.8486 \times V_1] \div (V_1 \div V \times 500) \times D$$

6. 液体样本：

$$\text{DPPH 自由基清除能力}(\mu\text{g Trolox/mL}) = [(清除率 + 0.4091) \div 3.0952 \times V_1] \div V_1 \times D$$

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.
注意：在体外研究使用，不用于诊断或治疗用途，本产品不是医疗装置。



$$=0.323 \times (\text{清除率} + 0.4091) \times D$$

举例：若清除率是 70%，则用 70 代入公式计算，即：

$$\text{DPPH 自由基清除能力}(\mu\text{g Trolox/mL}) = [(70 + 0.4091) \div 3.0952 \times V1] \div V1 \times D$$

V----加入提取液体积，1 mL

W----样品质量，g

500---细胞数量，万

V1----反应中样品体积，400 μ L=0.4 mL

Trolox 分子量----250.29

D---稀释倍数，未稀释即为 1

附：标准曲线制作过程：

1. 制备标准品母液（1mg/mL）：称取 2mg 标准品至离心管中，加入 2mL 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. 按照测定管加样体系操作，依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. 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：

4℃保存六个月。

