

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
工作液	粉末×1 瓶	4°C保存	临用前甩几下使试剂落入底部, 再加入 38mL 无水乙醇充分溶解备用; 用不完的试剂 4°C避光保存;
标准品	粉末×1 支	4°C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:

- 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°C下杀青 3min, 然后 60°C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°C, 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;

- 10000-12000g, 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:

- 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);
- 10000-12000g, 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:

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。



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：

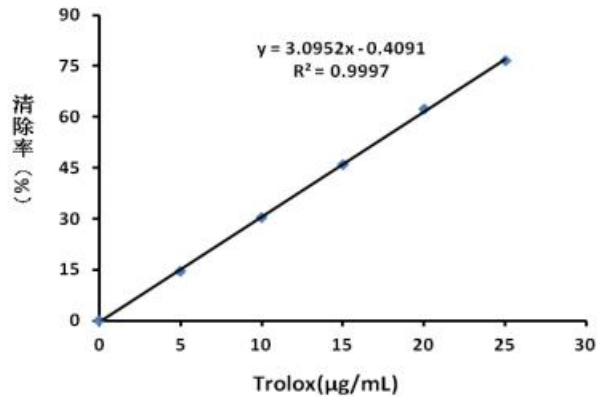
试剂名称 (μL)	测定管	对照管	空白管
样本	400	400	-
80%甲醇	-	600	400
工作液	600	-	600

混匀，室温(25°C)避光静置 30min，10000-12000g，室温离心 5min，取 800μL 至玻璃比色皿中，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 测定 - A 对照) ÷ A 空白) × 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：

$$\text{DPPH 自由基清除能力 (}\mu\text{g Trolox/g 鲜重)} = \frac{(\text{清除率} + 0.4091) \div 3.0952 \times V1}{(V1 \div V \times W) \times D} = 0.323 \times (\text{清除率} + 0.4091) \div W \times D$$

举例：若清除率是 70%，则用 70 代入公式计算，即：

$$\text{DPPH 自由基清除能力 (}\mu\text{g Trolox/g 鲜重)} = \frac{(70 + 0.4091) \div 3.0952 \times V1}{(V1 \div V \times W) \times D}$$

5. 按细菌/细胞计算：

$$\text{DPPH 自由基清除能力 (}\mu\text{g Trolox}/10^4 \text{ cell)} = \frac{(\text{清除率} - 0.7084) \div 2.8486 \times V1}{(V1 \div V \times 500) \times D} = 0.0007 \times (\text{清除率} - 0.7084) \div W \times D$$

举例：若清除率是 70%，则用 70 代入公式计算，即：

$$\text{DPPH 自由基清除能力 (}\mu\text{g Trolox/g 鲜重)} = \frac{(70 - 0.7084) \div 2.8486 \times V1}{(V1 \div V \times 500) \times D}$$

6. 液体样本：

$$\text{DPPH 自由基清除能力 (}\mu\text{g Trolox/mL)} = \frac{(\text{清除率} + 0.4091) \div 3.0952 \times V1}{V1 \times D} = 0.323 \times (\text{清除率} + 0.4091) \times D$$

举例：若清除率是 70%，则用 70 代入公式计算，即：

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

V----加入提取液体积，1 mL

V1----反应中样品体积，400μL=0.4 mL

W----样品质量，g

Trolox 分子量----250.29

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。



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 $^{\circ}$ C保存六个月。

