

## DPPH Scavenging Capacity Assay Kit

### DPPH 清除能力检测试剂盒 微板法

产品编号	产品名称	规格
BL897B	DPPH清除能力检测试剂盒 微板法	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	保存要求	备注
试剂一	粉末×2 支	4°C保存	<b>工作液配制:</b> 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°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:

(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°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;

(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;

(b) 取约  $5 \times 10^6$  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:

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。



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. 酶标仪预热 30min，设定波长到 517nm。
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：

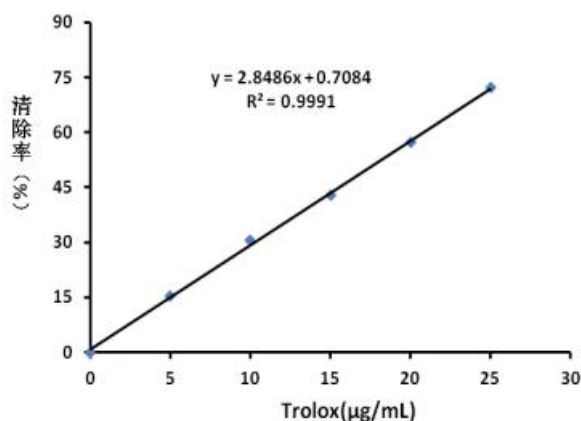
试剂名称 (μL)	测定管	对照管	空白管
样本	150	150	-
80%甲醇	-	150	150
工作液	150	-	150

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 = 2.8486x + 0.7084；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：

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

$$= 0.351 \times (\text{清除率} - 0.7084) \div W \times D$$

举例：若清除率是 70%，则用 70 代入公式计算，即：

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

5. 按细菌/细胞计算：

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

$$= 0.0007 \times (\text{清除率} - 0.7084) \div 500 \times D$$

举例：若清除率是 70%，则用 70 代入公式计算，即：

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

6. 液体样本：

$$\text{DPPH 自由基清除能力 (}\mu\text{g Trolox/mL)} = [(\text{清除率} - 0.7084) \div 2.8486 \times V1] \div V1 \times D$$

$$= 0.351 \times (\text{清除率} - 0.7084) \times D$$

举例：若清除率是 70%，则用 70 代入公式计算，即：

$$\text{DPPH 自由基清除能力 (}\mu\text{g Trolox/mL)} = [(70 - 0.7084) \div 2.8486 \times V1] \div V1 \times D$$

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。



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, 150 $\mu$ L=0.15 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 标准品即 Trolox 至新的离心管中, 再加 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 $\mu$ 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。

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。

