

# 总抗氧化能力（DPPH法）测试盒（微量法）

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：BA2420

产品规格：100管/96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、酶标仪、96孔板和蒸馏水。

## 试剂组成和配制：

提取液：液体120mL×1瓶，4°C保存，使用前预冷。

试剂一：液体45mL×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. 酶标仪预热 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 (μL)	20	
样品 (μL)		20
试剂一 (μL)	380	380

充分混匀，室温避光反应20min，取200μL至96孔板测定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。

## 总抗氧化能力计算公式：

1. 以自由基清除率表示：

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



郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

扫一扫 加微信

## 2. 以标准曲线上获得的抗氧化剂 Trolox 的量表示:

标准曲线:  $y=0.7072x - 0.0081$   $R^2= 0.9977$ x: Trolox 浓度( $\mu\text{mol}/\text{mL}$ ) y: 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

$$\begin{aligned} \text{总抗氧化能力} (\mu\text{mol Trolox/g 鲜重}) &= (\Delta A + 0.0081) \div 0.7072 \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \\ &= 1.414 \times (\Delta A + 0.0081) \div W \end{aligned}$$

## (2) 按样本蛋白浓度计算

$$\begin{aligned} \text{总抗氧化能力} (\mu\text{mol Trolox/mg prot}) &= (\Delta A + 0.0081) \div 0.7072 \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times C_{\text{pr}}) \\ &= 1.414 \times (\Delta A + 0.0081) \div C_{\text{pr}} \end{aligned}$$

## (3) 按细胞计算

$$\begin{aligned} \text{总抗氧化能力} (\mu\text{mol Trolox}/10^4\text{cell}) &= (\Delta A + 0.0081) \div 0.7072 \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times \text{细胞数量 (万个)}) \\ &= 1.414 \times (\Delta A + 0.0081) \div \text{细胞数量 (万个)} \end{aligned}$$

## (4) 按液体体积计算

$$\begin{aligned} \text{总抗氧化能力} (\mu\text{mol Trolox/mL}) &= (\Delta A + 0.0081) \div 0.7072 \\ &= 1.414 \times (\Delta A + 0.0081) \end{aligned}$$

V<sub>样总</sub>: 加入提取液体积, 1mL; V<sub>样</sub>: 反应中样品体积, 20 $\mu\text{L}$ ; W: 样品质量, g; C<sub>pr</sub>: 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。

**郑州乐业生物科技有限公司**

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com

扫一扫 加微信