

DPPH清除能力试剂盒（含清除率与Trolox当量结果）

（可见分光光度法）

产品货号：BA2558

产品规格：48样

产品简介：

DPPH(1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl radical) 即1,1-二苯基-2-苦基基自由基。广泛用于定量测定生物试样和食品的抗氧化能力。

此法是根据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A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
工作液	粉剂×2支 空瓶×2瓶	2-8°C，避光	用前甩几下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°C避光保存(配制好的工作液最好一个月内用完)。
标准品	粉剂×1支	2-8°C	若重新做标曲，则用到该试剂。

所需的仪器和用品：

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿(光径 1cm)、离心机、可调式移液器、研钵、冰、甲醇、无水乙醇和蒸馏水。

DPPH 自由基清除能力测定：

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定，了解本批样品情况，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费！

1. 样本制备：

(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。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 的比例进行提取。

(2) 细菌/细胞样本：

先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；取约 500 万细菌或细胞加入 1mL 80% 甲醇提取液，超声波破碎细菌或细胞(冰浴，功率 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，可按照细菌/细胞数量(10^4):提取液(mL)为 500~1000:1 的比例进行提取。

(3) 液体样本：直接检测；若浑浊，离心后取上清检测。

2. 上机检测：

(1) 可见分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 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 EP 管中依次加入：

试剂名称 (μL)	测定管	对照管	空白管 (仅做一次)
样本	400	400	



扫一扫 加微信

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

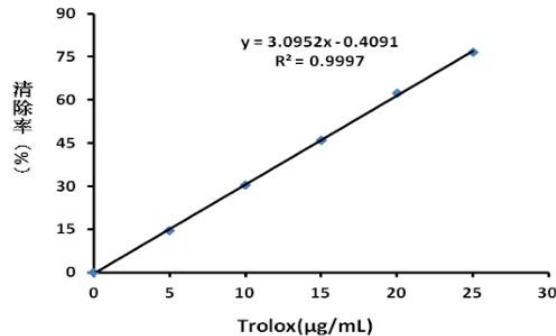
Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

80%甲醛		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至玻璃比色皿中，于517nm处读取吸光值A。			

结果计算:

- 标准曲线: $y=3.0952x-0.4091$; x 是标准品 Trolox 浓度($\mu\text{g/mL}$), y 是清除率 (%)。



- DPPH 自由基清除率($\%$)= $[(1-(A \text{ 测定}-A \text{ 对照})\div A \text{ 空白})\times 100]\%$
- 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。

- 按样本质量计算:

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

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

举例: 若清除率是 70%, 则用 70 代入公式计算, 即:

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

- 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:

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

- 液体样本:

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

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

举例: 若清除率是 70%, 则用 70 代入公式计算, 即:

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

V---加入提取液体积, 1mL; V1---反应中样品体积, 400μL=0.4mL; W---样品质量, g; 500---细胞数量, 万; 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:

- 制备标准品母液(1mg/mL): 称取 2mg 标准品即 Trolox 至一新 EP 管, 再加 2mL 甲醇充分溶解, 即 1mg/mL 标准品, 备用。
- 把母液用甲醇稀释成以下浓度梯度的标准品: 0, 5, 10, 15, 20, 25μg/mL。
- 按照测定管加样体系操作, 依据结果即可制作标准曲线。



扫一扫 加微信

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: zzybio@126.com