

# DPPH清除能力试剂盒（含清除率与Trolox当量结果）

## （微板法）

产品货号：BA2559

产品规格：96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10.5mL无水乙醇至该棕瓶中混匀做为工作液待用(总体积为12.5mL)；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：

酶标仪、96孔板、低温离心机、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1mL80%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) 酶标仪预热30min以上，调节波长至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	150	150	



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

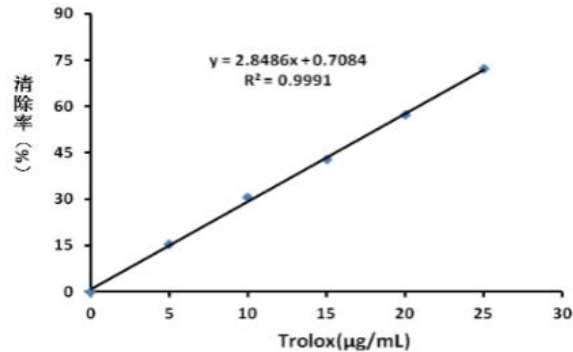
QQ: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

80%甲醛		150	150
工作液	150		150
混匀，室温(25℃)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。			

### 结果计算:

1. 标准曲线:  $y=2.8486x+0.7084$ ; x 是标准品 Trolox 浓度( $\mu\text{g/mL}$ ), 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:

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

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

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:

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

V---加入提取液体积, 1mL; V1---反应中样品体积, 150μL=0.15mL; 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:

1. 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。
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, 25μg/mL。
3. 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: zzlybio@126.com