DPPH清除能力检测试剂盒(微板法)

产品货号：BA3624

产品规格：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	保存条件	备注
试剂一	粉末×2支	2-8℃，避光	工作液配制：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℃避光保存。
标准品	粉末×1支	2-8℃	若重新做标曲，则用到该试剂
空瓶子（棕色）	15mL×2个		
96孔酶标板	1个		

操作步骤(仅供参考)：

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℃ 下杀青 3min，然后 60℃ 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℃，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，取上清待测。

【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 5×10^6 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 $0.5\sim1\times10^7$ 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：

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。

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

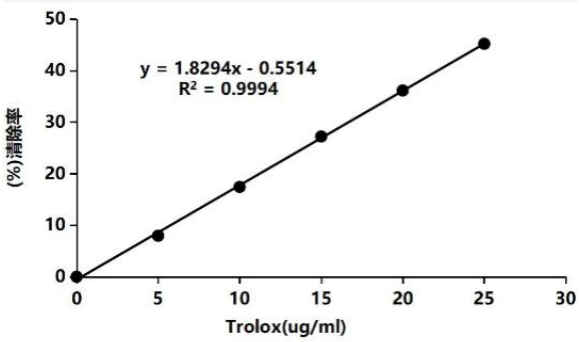
3. 在离心管中依次加入：

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、含量计算：

1. 标准曲线：y=1.8294x-0.5514；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. 按照样本质量计算：

   DPPH 自由基清除能力(μg Trolox/g 鲜重)=[(清除率+0.5514)÷1.8294×V_1]÷(V_1÷V×W)×D

   =0.547×(清除率+0.5514)÷W×D

   举例：若清除率是 70%，则用 70 代入公式计算，即：

   DPPH 自由基清除能力(μg Trolox/g 鲜重)=[(70+0.5514)÷1.8294×V_1]÷(V_1÷V×W)×D
5. 按照细菌/细胞计算:：

   DPPH 自由基清除能力(μg Trolox/10^4 cell)=[(清除率+0.5514)÷1.8294×V_1]÷(V_1÷V×500) ×D

   =0.547×(清除率+0.5514)÷500×D

   举例：若清除率是 70%，则用 70 代入公式计算，即：

   DPPH 自由基清除能力(μg Trolox/10^4 cell)=[(70+0.5514)÷1.8294×V_1]÷(V_1÷V×500) ×D
6. 液体样本：

   DPPH 自由基清除能力(μg Trolox/mL)=[(清除率+0.5514)÷1.8294×V1]÷V_1×D

   =0.547×(清除率+0.5514)×D

   举例：若清除率是 70%，则用 70 代入公式计算，即：

   DPPH 自由基清除能力(μg Trolox/mL)=[(70+0.5514)÷1.8294×V_1]÷V_1×D

   V--加入提取液体积，1mL；　　V_1---反应中样品体积，150μL=0.15ml

   W---样品质量，g；　　D---稀释倍数，未稀释即为 1；

   Trolox 分子量----250.29；　　500---细胞数量，万

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 至离心管，加入 2mL 的甲醇，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、25μg/mL。也可根据实际样本来调整标准品浓度。

3. 按照测定管的加样体系操作，根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. 试剂开封后请尽快使用，以防影响后续实验效果。
3. 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：

低温运输，2-8℃保存，6 个月有效。

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