

DPPH 清除能力试剂盒

- 【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。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。

【货号】 TC1026

【规格】 96T

【包装清单】

试剂名称	规格	保存条件	备注
工作液	粉剂×2支 空瓶×2瓶	4℃	
标准品	粉剂×1支	4℃	若重新做标曲，则用到该试剂

工作液配制(使用前现配)：

- 用前甩几下EP管使试剂落入底部。
- 向一支EP管中加0.5mL无水乙醇溶解后全部转移至1个棕色空瓶中。
- 再用0.5mL无水乙醇涮洗EP管2次，每次均转移至该棕瓶中。
- 最后补加11mL 无水乙醇至该棕瓶中混匀，总体积为12.5mL(该试剂4℃避光保存)。
- 临用前将上步试剂用无水乙醇稀释2倍左右，使A空白管为 1 ± 0.1 ，即可做为工作液待用(配制好的工作液需4℃避光保存，最好一个月内用完)。

【保存条件】 4℃保存，有效期一年。

【操作步骤】 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℃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。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(uL)	测定管	对照管	空白管(仅做一次)
样本	150	150	
80%甲醇		150	150
工作液	150		150
混匀, 室温(25℃)避光静置30min;12000rpm, 室温离心5min, 取200uL至96 孔板中, 于517nm处读取吸光值A。			

注意:本操作流程适用于绝大多数常规样本检测, 实验条件可根据实际样本状态适度微调;针对特殊类型样本, 我司技术支持可提供专属优化建议。

3、结果计算

①标准曲线: $y=2.8486x+0.7084$;x是标准品Trolox浓度(ug/mL), y是清除率(%)。

②DPPH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：

DPPH自由基清除能力(ug Trolox/g鲜重)=[(清除率-0.7084)÷2.8486×V1]÷(V1÷V×W)×D =0.351×(清除率-0.7084)÷W×D

举例:若清除率是70%，则用70 代入公式计算，即：

DPP自由基清除能力 (ug Trolox/g 鲜重)=[(70-0.7084) ÷ 2.8486 × V1] ÷ (V1 ÷ V × W) × D

⑤按细菌/细胞计算：

DPPH自由基清除能力 (ug Trolox/10⁴cell)=[(清除率-0.7084) ÷ 2.8486 × V1] ÷ (V1 ÷ V × 500) × D=0.0007 × (清除率-0.7084) ÷ 500 × D

⑥液体样本：

DPP自由基清除能力 (ug Trolox/mL)=[(清除率-0.7084) ÷ 2.8486 × V1] ÷ V1 × D=0.351 × (清除率-0.7084) × D

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

W---样品质量，g； 500---细菌或细胞总数，万；

Trolox分子量---250.29； D--稀释倍数，未稀释即为 1；

- 【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。