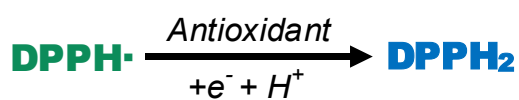




DPPH 自由基清除能力检测试剂盒

DPPH Free Radical Scavenging Ability Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



DPPH 自由基清除能力检测试剂盒

DPPH Free Radical Scavenging Ability Assay Kit

一、产品描述

DPPH 自由基是一种具有单电子、稳定的、以氮为中心的顺磁化合物，DPPH 自由基的稳定性来源于其三个苯环的 π - π 共轭作用和空间障碍，使得中间氮原子上的不成对电子无法成对，从而形成稳定的自由基，其褪色程度能够反映抗氧化物质的清除能力。DPPH 法作为抗氧化能力的重要评价指标之一，在抗氧化类食品、保健品及药品抗氧化活性的分析和筛选过程中具有广泛应用。

DPPH 自由基具有单电子，其有机溶液呈紫色，在 515 nm 处具有特征吸收峰，当有抗氧化剂存在时，DPPH 自由基接受一个电子或氢原子，形成稳定的 DPPH-H 化合物，使溶液从紫色变为黄色，变色程度与其自由基清除活性呈定量关系，通过吸光度的变化即可表征 DPPH 自由基清除能力，并提供 Trolox 作为阳性对照量化抗氧化物质的清除能力。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 130 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂一	液体 50 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂二	粉剂×1 瓶	4°C 避光保存	使用前加入 3 mL 试剂一充分溶解 (分装后 -20°C 可保存 1 个月，避免反复冻融)
试剂三	粉剂×1 支	4°C 保存	使用前加入 1 mL 提取液充分溶解 (即为 20 mmol/L Trolox 溶液)
DPPH 工作液的制备 (现用现配): 使用前根据使用量按照试剂一: 试剂二=9:1 的体积比配制，充分混匀即为 DPPH 工作液，配制后 4°C 可保存 1 周。			

注: 试剂二中加入试剂一后建议充分振荡或超声溶解，确保粉剂已完全溶解无颗粒。

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂: 酶标仪、96 孔板、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱、烘箱、30-50 目筛和蒸馏水。

1.待测样本的制备（可根据预实验结果适当调整样本量及比例）

①组织样本：将新鲜组织样本置于 60℃烘箱烘干至恒重，研钵研碎（或粉碎机粉碎），过 30-50 目筛；称取 50 mg 处理后样本，加入 1 mL 提取液充分混匀，40℃浸提 30 min，10000 g 常温离心 10 min，取上清液即为待测样本，置于冰上待测。

②液体样本：吸取 100 μ L 液体样本加入 900 μ L 提取液，旋涡振荡充分混匀，10000 g 常温离心 10 min，取上清液即为待测样本，置于冰上待测。

③提取物或者药物：取适量提取物或药物，使用提取液配制为一定浓度的待测样本。

2.测定步骤

①酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 515 nm。

②Trolox 阳性对照（TR）的设置：若需要 Trolox 阳性对照量化关系，建议将试剂三（20 mmol/L Trolox 溶液）使用提取液稀释至 1.6、1.2、0.8、0.4、0.2、0.1 mmol/L 即为 Trolox 稀释液；注：若需清除率约为 100%的阳性对照，建议将试剂三使用提取液配制至大于 1.6 mmol/L 的 Trolox 稀释液。

序号	A	1	2	3	4	5	6
稀释前浓度（mmol/L）	20	2.0	2.0	2.0	0.8	0.4	0.2
Trolox 溶液体积（ μ L）	100	400	300	200	200	200	200
提取液体积（ μ L）	900	100	200	300	200	200	200
稀释后浓度（mmol/L）	2.0	1.6	1.2	0.8	0.4	0.2	0.1

③在 96 孔板中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 （ μ L）	对照组 （ μ L）	TR 组 （ μ L）	空白组 （ μ L）
待测样本	10	10	-	-
Trolox 稀释液	-	-	10	-
提取液	-	-	-	10
试剂一	-	190	-	-
DPPH 工作液	190	-	190	190
充分混匀，室温避光准确反应 30 min				

吸光值测定：测定 515 nm 处吸光值，记为 A 测定、A 对照、A TR 和 A 空白。注：每个样本均需设一个对照组，各浓度 TR 组和空白组只需测定 1-2 次。

3.DPPH 自由基清除能力计算

①待测样本自由基清除率计算公式

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

②Trolox 阳性对照组自由基清除率计算公式

$$\text{DPPH 自由基清除率 (D}_{\text{TR}}\%) = \frac{(A_{\text{空白}} - A_{\text{TR}})}{A_{\text{空白}}} \times 100\%$$

4.Trolox 量化曲线的建立

以 1.6、1.2、0.8、0.4、0.2、0.1 mmol/L Trolox 稀释液浓度为横坐标 (x)，以其对应的 DPPH 自由基清除率 (D_{TR}%) 为纵坐标 (y)，绘制标准曲线，即可得到线性方程 $y=kx+b$ ，将样本 DPPH 自由基清除率 (D_S%) 带入公式中得到 x (mmol/L)，即为待测样本 DPPH 清除能力的 Trolox 等效量化值。

四、注意事项

①样品提取过程建议在冰上完成操作，且提取后应当天完成测定；

②若待测样本 DPPH 自由基清除率 (D_S%) 大于 90%，建议将待测样本使用**提取液**稀释后再进行测定；若待测样本 DPPH 自由基清除率 (D_S%) 小于 5%，建议适当增加烘干样本质量或液体样本体积重新提取后再进行测定，计算时相应修改；

③不同样本 DPPH 自由基清除能力可能相差较大，若需要比较不同样本的 DPPH 自由基清除能力，建议对于同一批植物样本加入等量的样本，液体样本加入相同体积，提取物或者药物配制为相同浓度；将样本根据预实验结果进行适当调整，比较同样浓度（相同稀释倍数）的清除率大小；

④为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.
Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

