

DPPH 自由基清除能力检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1929

保存：4℃避光保存 12 个月

规格：48T/48S 96T/96S

适用样本：动植物组织、细胞、提取物或药物、红酒或果汁等液体样本

产品简介

抗氧化剂是一类能够中和自由基活性，中断链式氧化反应的物质。抗氧化能力指的是样品中所含的抗氧化剂中和自由基、延缓或抑制其他物质被氧化的能力。DPPH 自由基一种很稳定的氮中心的自由基，是用于衡量样本抗氧化能力的重要指标之一，广泛应用于抗氧化类食品、保健品及药品的研究中。本试剂盒提供了一种简便的比色测定法，用于测定样本 DPPH 自由基清除能力。其原理是 DPPH 自由基有单电子，其醇溶液呈紫色，在 515nm 处有强吸收。当有抗氧化剂存在时，DPPH 自由基被清除，其溶液颜色变浅，515 nm 的吸光度下降，在一定范围内其吸光度的变化与自由基被清除的程度成正比。通过吸光度下降的程度来反映样本清除 DPPH 自由基的能力。

产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
提取液	60mL	120mL	4℃保存
试剂一	自备	自备	室温保存
试剂二	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	4℃保存
试剂三	粉剂×1 支	粉剂×1 支	4℃避光保存

自备耗材

酶标仪或可见光分光光度计（能测 515nm 处的吸光度）

96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头

低温离心机、制冰机

无水乙醇、去离子水

匀浆器（如果是组织样本）

试剂准备

注意：各组分（小管试剂）开盖前，请先低速离心。

提取液：即用型；4℃保存。

试剂一：自备无水乙醇，96T 大约需要 45mL；常温保存。

试剂二：临用前每瓶加入 2mL 试剂一（无水乙醇）充分溶解得试剂二母液，用不完的试剂二母液可分装-20℃保存 1 个月，避免反复冻融。根据实验所需量，按照试剂二母液：试剂一（V:V）=4:21 的比例配制成工作液，现用现配，用不完的工作液可 4℃保存一周。

试剂三：每支含有 10mg 维生素 C，临用前加入 1mL 提取液来溶解，混匀得到 10mg/mL 的维生素 C 母液，可 4℃保存两周；用于阳性对照的测定。然后取 30 μL 母液加到 0.97mL 提取液中混匀，得到浓度 0.3mg/mL 试剂三工作液，现配现用。

样本制备

动物组织：称取 0.1g 样本，加入 1mL 提取液，冰浴匀浆，转移到 1.5mL EP 管中，10,000g，4℃离心 10min，取上清液于新离心管中，置冰上检测。

产品说明书

植物组织：称取 0.1g 样本，加入 1mL 提取液捣碎，冰浴超声波破碎 5min（功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次），转移到 1.5mL EP 管中，10,000g，4℃ 离心 10min，取上清液于新离心管中，置冰上检测。

细胞：收集 5×10^6 个细胞，用冷 PBS 清洗细胞后，离心后弃上清，加入 1mL 预冷的提取液，冰浴超声波破碎细胞 5min（功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次），然后 10,000g，4℃ 离心 10min，取上清液，置冰上待测。

红酒、果汁等液体样本：取 0.1mL 样本加入 1mL 提取液，混匀。10,000g，4℃ 离心 10min，取上清液于新离心管中，置冰上检测。

提取物或药物：可用提取液配成一定浓度，如：5mg/mL

注意：1. 推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存 1 个月。

2. 不能用 EDTA 作为血浆样品的抗凝剂。样品中也不能含有 DTT、巯基乙醇、Tween、Triton 和 NP-40 等去垢剂和 DTT、巯基乙醇等影响氧化还原反应的还原剂。

实验步骤

1. 酶标仪或可见光分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 515nm，可见光分光光度计无水乙醇调零。

2. 样本测定（在 96 孔板或微量玻璃比色皿中依次加入下列试剂）：

试剂名称	空白孔（μL）	空白对照孔（μL）	测定孔（μL）	对照孔（μL）	阳性孔（μL）
样本	0	0	10	10	0
试剂三工作液	0	0	0	0	10
提取液	10	10	0	0	0
试剂一	0	190	0	190	0
工作液	190	0	190	0	190

充分混匀，室温避光静置反应 30min，于 515nm 测定吸光值，计算 $\Delta A_{\text{测}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ； $\Delta A_{\text{空}} = A_{\text{空白}} - A_{\text{空白对照}}$ ； $\Delta A_{\text{阳}} = A_{\text{阳性}} - A_{\text{空白对照}}$ （空白孔、空白对照孔和阳性孔只需做 1 个）

注意：实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验，如果清除率大于 90%，样本可用提取液进一步稀释；清除率小于 5%，建议加大样本量。

结果计算

样本 DPPH 自由基清除率计算公式：

$$\text{DPPH 自由基清除率 D\%} = (\Delta A_{\text{空}} - \Delta A_{\text{测}}) / \Delta A_{\text{空}} \times 100\%$$

注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验，尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究，如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途，我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用，并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用；否则，可能导致结果异常。
5. 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。

相关产品：

PMK1052 羟自由基清除能力检测试剂盒（微量法）

PMK1036 超氧化物歧化酶（SOD）检测试剂盒（微量法）

PMK1038 过氧化物酶（POD）检测试剂盒（微量法）

PMK1041 黄嘌呤氧化酶（XO）检测试剂盒（微量法）

PMK1037 过氧化氢酶（CAT）检测试剂盒（微量法）

PMK1061 超氧阴离子清除能力检测试剂盒（微量法）

PMK1930 ABTS 自由基清除能力检测试剂盒（微量法）

更多产品详情了解，请关注公众号：

