

DPPH 自由基清除能力检测试剂盒说明书

货号：RX876W48 规格：48 样 方法：酶标仪法

一、注意事项

- 1.使用前请通读一遍说明书再开始实验。
- 2.正式检测前选取 2~3 个预期差异较大的样本进行预检测。
- 3.本试剂盒仅用于科研。

二、产品组分

试剂名称	试剂规格	保存条件	备注
提取液	55 mL×1	4°C	
试剂一	22 mL×1	4°C避光	棕色瓶保存

三、仪器和用品

酶标仪、96 孔板、移液器、天平、可降温离心机、超纯水/蒸馏水。

四、样品制备

1. 血清、血浆等液体样品：直接测定。
2. 组织样品

按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）进行冰浴匀浆，10000 g，4°C 离心 10 min 后，置于冰上，上清液为待测样本。

3. 细胞样品

按照细胞数量（ 10^4 个）：提取液体积（mL）为 500~1000：1 的比例（建议 500 万细胞加入 1 mL 提取液），冰浴超声波破碎（功率 200 W，超声 3 s，间隔 10 s，重复 30 次）；10000 g，4°C 离心 10 min 后，置于冰上，上清液为待测样本。

五、测定步骤

1. 酶标仪预热 30 min 以上，波长调至 515 nm 处。
2. 在 1.5 mL 离心管中依次加入（加入下列试剂时确保准确，降低误差）：

试剂名称	空白管	测定管
提取液 (μL)	20	-
样本 (μL)	-	20
试剂一 (μL)	380	380

充分混匀，室温避光反应 20 min，取 200 μL 至 96 孔板测定 515 nm 吸光值， $\Delta A = A_{\text{空白}} - A_{\text{测定}}$ 。注意：空白管只需测定 2~3 次。

六、计算：

1、以自由基清除率表示：

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

2、以标准曲线上获得的抗氧化剂 Trolox 的量表示：

$$\text{标准曲线: } y = 0.6208x - 0.0028, R^2 = 0.9996;$$

x: 标准品 Trolox 浓度 (μmol/mL), y: 吸光值 ΔA

单位定义: 以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。

(1) 按样本质量计算

$$\text{DPPH 自由基清除能力 } (\mu\text{mol Trolox/g 鲜重}) = (\Delta A + 0.0028) \div 0.6208 \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) = 1.6108 \times (\Delta A + 0.0028) \div W$$

(2) 按样本蛋白浓度计算 (需另外测蛋白浓度)

$$\text{DPPH 自由基清除能力 } (\mu\text{mol Trolox/mg prot}) = (\Delta A + 0.0028) \div 0.6208 \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times C_{\text{pr}}) = 1.6108 \times (\Delta A + 0.0028) \div C_{\text{pr}}$$

(3) 按细胞计算

$$\text{DPPH 自由基清除能力 } (\mu\text{mol Trolox}/10^4 \text{cell}) = (\Delta A + 0.0028) \div 0.6208 \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times \text{细胞数量 (万个)}) = 1.6108 \times (\Delta A + 0.0028) \div \text{细胞数量 (万个)}$$

(4) 按液体体积计算

$$\text{DPPH 自由基清除能力 } (\mu\text{mol Trolox/mL}) = (\Delta A + 0.0028) \div 0.6208 = 1.6108 \times (\Delta A + 0.0028)$$

$V_{\text{样总}}$: 加入提取液体积, 1 mL; $V_{\text{样}}$: 反应中样品体积, 20 μL; W : 样品质量, g; C_{pr} : 样本蛋白浓度, mg/mL。

七、产品简介

当生物遭遇胁迫时，体内会产生过量活性氧。此时，生物自身的抗氧化系统（包括超氧化物歧化酶 SOD、过氧化氢酶 CAT 等酶系统和维生素 C、谷胱甘肽等非酶物质）会被激活以清除活性氧，保护细胞。通过检测胁迫条件下生物 DPPH 清除能力的变化，可以直观反映其抗氧化防御系统的强弱，从而评估其抗逆能力。