

DPPH 自由基清除率检测试剂盒(比色法)

产品简介:

在生命活动的代谢过程中不断产生各种自由基,而自由基的积累会使机体产生氧化损伤而引起衰老、肿瘤、中风、心肌炎和糖尿病等慢性疾病,在众多自由基中 2, 2-二苯基-1-苦基苯肼(DPPH)是一种较稳定的自由基,当有自由基清除剂存在时颜色由紫色向黄色转变,吸光度随之变小。

DPPH 自由基清除率检测试剂盒(比色法)又称氮自由基清除能力检测试剂盒或氮自由基清除率检测试剂盒,其检测原理是 DPPH 自由基是一种较稳定的含氮自由基,含一个单电子,溶于乙醇后溶液呈紫色,在 517nm 下有强吸收,如果有其他物质提供一个电子与此单电子配对,溶液会褪色,褪色程度与接受电子的量成正比,通过吸光度下降的程度来反应样品的氮自由基清除能力,主要用于检测血清、植物组织、抗氧化类食品、保健品及药品等样本。该试剂盒仅用于科研领域,不适用于临床诊断或其他用途。

产品组成:

名称 \ 编号	TO1143 50T	TO1143 100T	Storage
试剂(A): 氮自由基提取液	50ml	100ml	RT
试剂(B): DPPH 溶液	50ml	100ml	4°C 避光
试剂(C): 维生素 C	10mg	10mg	4°C 避光
使用说明书	1 份		

自备材料:

- 1、植物组织(芹菜、玉米等叶片)、血液、蒸馏水、无水乙醇、氢氧化钠、盐酸等实验材料
- 2、研钵或匀浆器、粉碎机或超声破碎机、离心机、离心管、恒温水浴锅、恒温干燥箱、电子天平、30~50 目筛、分光光度计、比色皿

操作步骤(仅供参考):

1、准备样品:

- ①植物样品:取新鲜植物样本,清洗干净,研钵研碎(粉碎),干燥箱烘干后过筛,称取 0.05g 样品,加入 0.8ml 氮自由基提取液,40°C 水浴浸提 30~60min, 10000rpm 离心 10min, 上清液待用, 4°C 保存备用(亦可参考相关资料提取方法提取)。
- ②血浆、血清和尿液样品:血浆(用肝素或枸橼酸钠抗凝,不宜使用 EDTA 抗凝) 4°C 5000rpm 离心 10min, 取上清液待用;血清或尿液样品可直接测定。
- ③细胞样品:按每 5×10^6 个细胞加入 0.8ml 氮自由基提取液,超声破碎(功率 200W, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次), 10000rpm 离心 10min, 取上清液待用。
- ④果汁、葡萄酒等样品:按样品:氮自由基提取液=1: 9 的比例震荡混匀, 10000rpm 离心 10min, 上清液待用, 4°C 保存备用。
- ⑤高活性样品:如果样品中有效浓度较高,可用提取液进行恰当的稀释。

- 2、配制维生素 C 溶液:将一支 10mg 维生素 C 充分溶解于 1ml 氮自由基提取液中,即成 10mg/ml 维生素 C 溶液;可分成 0.1ml 的小份, -20°C 保存。

- 3、配制 Vc 标准工作液：如需测线性关系，建议用氮自由基提取液将 10mg/ml 维生素 C 溶液稀释至 50、40、30、20、10、5μg/ml 的 Vc 标准工作液；如需清除率大于 90% 的阳性对照，建议选用大于 50μg/ml 的 Vc 标准工作液。
- 4、分光光度计开机预热 30min，调节波长 517nm(500~530nm 亦可)，无水乙醇调零。
- 5、DPPH 加样：按照下表设置空白管、样本测定管、样本对照管、阳性对照管，溶液应按照顺序依次加入，混匀，室温避光静置 30min。

加入物(ml)	空白管	样本测定管	样本对照管	阳性对照管(标准管)
氮自由基提取液	0.2	—	—	—
上清液	—	0.2	0.2	—
Vc 标准工作液	—	—	—	0.2
无水乙醇	0.9	0.9	1.8	0.9
DPPH 溶液	0.9	0.9	—	0.9

- 6、OD 值测定：将各管溶液室温 12000rpm 离心 5min，取上清依次加入到比色皿中，用分光光度计检测各管吸光度值，依次记为 A₀、A₁、A₂、A₃。

计算：

阳性对照·DPPH 清除率(%) = $(A_0 - A_3)/A_0 \times 100\%$

待测样本·DPPH 清除率(%) = $[A_0 - (A_1 - A_2)]/A_0 \times 100\%$

备注：A₀=空白管的吸光度值

A₁=样本测定管的吸光度值

A₂=样本对照管的吸光度值

A₃=阳性对照管的吸光度值

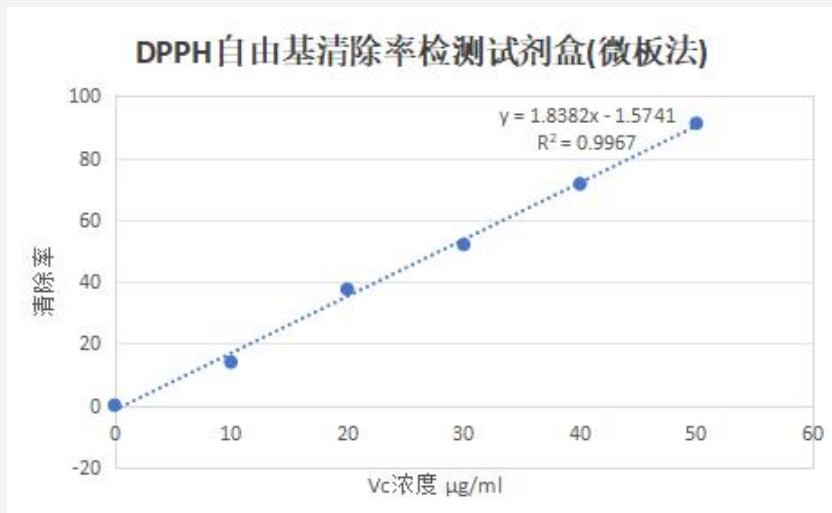
注意事项：

- 1、正式测定之前建议选择 2~3 个预期差异较大的样本做预实验。
- 2、实验材料应尽量新鲜，当天提取当天测定。
- 3、不同样本清除 DPPH 自由基的能力差异很大。如样本 DPPH 清除率大于 90%，应用提取液稀释；如样本 DPPH 清除率小于 5%，应提高样本用量以提高有效成分浓度。
- 4、如样品活性较低时，可通过提高上清液加入量或减少 DPPH 溶液加入量来增加检测的灵敏度。
- 5、不同批次生产的 DPPH 溶液初始吸光度值可能有差异，根据实际情况，DPPH 溶液可用无水乙醇稀释 1~2 倍后使用。(参见附录 2)
- 6、样品中不宜添加 Triton、DTT 等可能影响氧化还原反应的成分。
- 7、本方法受反应时间、DPPH 初浓度、样品性质的影响，还受到光照、氧气、pH 值、有机离子、无机离子等外界因素的影响。
- 8、如果样品提取液 pH 值偏碱性，将可能导致样本测定管吸光度大于空白管吸光度，使清除率为负值，可用氢氧化钠等调整 pH 至中性。
- 9、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
- 10、试剂开封后请尽快使用，以防影响后续实验效果。

有效期：6 个月有效；低温运输，按要求保存。

附录 1：标准曲线制作：在室温条件下按说明书操作，对系列 Vc 标准工作液（60、50、40、30、20、10μg/ml）进行吸光度的测定，其数值及标准曲线如下(仅供参考)：

	初始吸光度值	调零吸光度值	·DPPH 清除率
无水乙醇	0.039		
空白管	0.641	0.602	0
Vc 标准 10μg/ml	0.557	0.518	13.95348837
Vc 标准 20μg/ml	0.415	0.376	37.54152824
Vc 标准 30μg/ml	0.328	0.289	51.99335548
Vc 标准 40μg/ml	0.21	0.171	71.59468439
Vc 标准 50μg/ml	0.092	0.053	91.19601329
Vc 标准 60μg/ml	0.075	0.036	94.01993355



由上图可知：Vc 标准工作液在 0~50μg/ml 时线性关系良好，·DPPH 清除率与 Vc 浓度呈正相关，当 Vc 浓度大于 50μg/ml 时，·DPPH 清除率接近最大值，数据有偏差。

附录 2：用无水乙醇将 DPPH 溶液分别稀释 1 倍和 2 倍后，Vc 标准分别在 0~28μg/ml 和 0~20μg/ml 时线性关系良好，·DPPH 清除率与 Vc 浓度呈正相关，数据参考如下：

	无水乙醇+DPPH 溶液(1+1)		无水乙醇+DPPH 溶液(2+1)	
	调零吸光度值	·DPPH 清除率	调零吸光度值	·DPPH 清除率
空白管	0.304	0	0.209	0
Vc 标准 1μg/ml	0.274	9.868421053	0.204	2.392344498
Vc 标准 4μg/ml	0.256	15.78947368	0.171	18.18181818
Vc 标准 6μg/ml	0.237	22.03947368	0.143	31.57894737
Vc 标准 8μg/ml	0.219	27.96052632	0.127	39.23444976
Vc 标准 10μg/ml	0.19	37.5	0.097	53.58851675
Vc 标准 15μg/ml	0.157	48.35526316	0.053	74.64114833
Vc 标准 20μg/ml	0.079	74.01315789	0.012	94.25837321
Vc 标准 30μg/ml	0.018	94.07894737	0.01	95.215311

文献引用:

- 1、 Zhiru Xiu,Yilong Zhu,Jicheng Han,et al.Caryophyllene Oxide Induces Ferritinophagy by Regulating the NC OA4/FTTH1/LC3 Pathway in Hepatocellular Carcinoma.Frontiers in Pharmacology.July 2022.10.3389/fphar.2022.930958.(IF 5.988)

注：更多使用本产品的文献请参考产品网页

相关产品:

产品编号	产品名称
PT0001	BCA 蛋白定量试剂盒
TC0511	粪便隐血定性检测试剂盒(邻联甲苯胺法)
TC0545	总蛋白检测试剂盒(双缩脲微板法)
TC0709L	葡萄糖含量测定试剂盒(GOPOD 氧化酶法) 分光法
TC0751	丙酮酸检测试剂盒(二硝基苯肼比色法)
TC0980	亚铁检测试剂盒(TPTZ 微板法)
TC1015	铁检测试剂盒(亚铁嗉微板法)
TC1025	钙检测试剂盒(邻甲酚酞络合酮微板法)
TC1039	无机磷检测试剂盒(硫酸亚铁钼蓝比色法)
TC1051	镁检测试剂盒(甲基麝香草酚蓝微板法)
TC1167	尿素(Urea)检测试剂盒(脲酶波氏比色法)
TC1187	肌酐(Cr)检测试剂盒(PA 速率微板法)
TC1198L	尿酸(UA)含量测定试剂盒(尿酸酶比色法) 微板法
TC1500L	ATP 含量试剂盒(磷钼酸比色法) 微板法
TC2121	原果胶(PP)检测试剂盒(咔唑微板法)
TC2151	氨基酸(AA)检测试剂盒(茚三酮微板法)
TC2341	一氧化氮检测试剂盒(磺胺微板法)
TE0121	丙氨酸氨基转移酶(ALT)检测试剂盒(赖氏微板法)
TE0160L	乳酸脱氢酶(LDH)活性检测试剂盒 微板法
TE0321	铜蓝蛋白(CP)检测试剂盒(胺比色法)
TE0403	苯丙氨酸解氨酶(PAL)检测试剂盒(苯丙氨酸比色法)
TE0422L	过氧化物酶(Peroxidase, POD)活性检测试剂盒 分光法
TE0700	谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)检测试剂盒(微板法)
TE0727	总超氧化物歧化酶(SOD)检测试剂盒(黄嘌呤氧化酶微板法)
TE0747L	过氧化氢酶(CAT)试剂盒 微板法
TE1010	辅酶 Q ₁₀ (CoQ ₁₀)检测试剂盒(微板法)
TE1030L	NADP ⁺ /NADPH 检测试剂盒(WST-8 法)
TO0200L	ROS 活性氧检测试剂盒
TO0300L	脂质氧化(MDA)检测试剂盒
TO1050L	GSH 和 GSSG 检测试剂盒
TO1075	过氧化氢(H ₂ O ₂)检测试剂盒(硫酸钛微板法)
TO1134L	羟自由基清除能力检测试剂盒 微板法
TO1141	DPPH 自由基清除率检测试剂盒(微板法)
TO1160L	ABTS 清除能力检测试剂盒 微板法