

总抗氧化能力（DPPH 法）试剂盒说明书

微量法 100T/96S

注意：正式测定之前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定。

测定意义：

测定对象中各种抗氧化物质和抗氧化酶等构成总抗氧化水平。在生物学、医学和药学研究中常常检测血浆、血清、唾液、尿液等各种体液，细胞或组织等裂解液、植物或中草药抽提液及各种抗氧化物(antioxidant)溶液的总抗氧化能力。

测定原理：

DPPH·为稳定的自由基，溶于甲醇，乙醇等极性溶剂中，在 515nm 处有最大吸收。向 DPPH·溶液中加入抗氧化剂时，会发生脱色反应，因此可用吸光度的变化并以 Trolox 作为对照体系量化抗氧化物质的抗氧化能力。

组成：

产品名称	AO038-100T/96S	Storage
提取液：液体	120ml	4℃
试剂一：液体	45ml	4℃避光
说明书	一份	

提取液使用前需要预冷

自备仪器和用品：

酶标仪、低温台式离心机、可调式移液器、96 孔板、恒温水浴锅、冰和蒸馏水。

样品的制备：

(1) 血清、血浆、唾液或尿液等液体样品

血浆（制备时可以使用肝素或柠檬酸钠抗凝，不宜使用 EDTA 抗凝）4℃，5000rpm 离心 10min，取上清待测。血清、唾液或尿液样品直接用于测定，也可以-80℃冻存（不宜超过 30 d）后再测定。

(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 0.1g 组织，加入 1ml 提取液）进行冰浴匀浆，然后 10000g，4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

(3) 细胞样品

最终解释权所有 © 伊势久（江苏连云港）生物科技有限责任公司，保留一切权利



伊势久(江苏连云港)生物科技有限责任公司

江苏省连云港市海州区花果山大道 17 号



服务热线：0518-81263339

官网：<http://www.bio149.com>

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 1ml 提取液), 冰浴超声波破碎 (功率 200W, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次); 10000g, 4℃离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

测定步骤:

- 1、酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 515nm。
- 2、样本测定

试剂名称 (μl)	空白管	测定管
提取液	20	
样品		20
试剂一	380	380
充分混匀, 室温避光反应 20min, 取 200μl 至 96 孔板测定 515nm 吸光值, $\Delta A = A_{\text{空白}} - A_{\text{测定}}$		

注意:

- 1.空白管只需测定一次, 若 $A_{\text{测定}}$ 小于 0.2, 需用提取液稀释样品后进行检测。
- 2.反应结束后若溶液中存在絮状沉淀, 需要 2000xg 离心 10min, 取上清进行检测。

总抗氧化能力计算公式:

1、以自由基清除率表示:

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:

标准曲线: $y = 0.7072x - 0.0081$ $R^2 = 0.9977$

x: Trolox 浓度 (μmol/ml)

y: 吸光值差值 ΔA

单位定义: 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。

(1) 按样本质量计算

$$\begin{aligned} \text{总抗氧化能力 } (\mu\text{mol Trolox/g 鲜重}) &= (\Delta A + 0.0081) \div 0.7072 \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \\ &= 1.414 \times (\Delta A + 0.0081) \div W \end{aligned}$$

(2) 按样本蛋白浓度计算

$$\begin{aligned} \text{总抗氧化能力 } (\mu\text{mol Trolox/mg prot}) &= (\Delta A + 0.0081) \div 0.7072 \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times C_{\text{pr}}) \\ &= 1.414 \times (\Delta A + 0.0081) \div C_{\text{pr}} \end{aligned}$$

(3) 按细胞计算

$$\begin{aligned} \text{总抗氧化能力 } (\mu\text{mol Trolox}/10^4 \text{ cell}) &= (\Delta A + 0.0081) \div 0.7072 \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times \text{细胞数量 (万个)}) \\ &= 1.414 \times (\Delta A + 0.0081) \div \text{细胞数量 (万个)} \end{aligned}$$

(4) 按液体体积计算

$$\begin{aligned} \text{总抗氧化能力 } (\mu\text{mol Trolox/ml}) &= (\Delta A + 0.0081) \div 0.7072 \\ &= 1.414 \times (\Delta A + 0.0081) \end{aligned}$$

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



注意事项：

1. 尽量避免使用在酸性条件下呈红色或接近红色的试剂，否则对本试剂盒的检测结果产生干扰。
2. 样品中不宜添加 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。
3. 若液体样本为碱性，需要用提取液稀释至酸性后再检测。

