

总抗氧化能力测定试剂盒-酶标法(DPPH 法)

Total Antioxidant Capacity(T-AOC) Assay Kit(DPPH 法)

01/ 产品介绍

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。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。

产品包装清单

产品包装清单		
100T		
BR5001061.1	提取液	1 瓶
BR5001061.2	试剂一	1 瓶
BR5001061.m	说明书	1 份

02/ 质量标准及安全说明*

质量标准及安全说明

原料及包装名称	质量标准	主要毒性
提取液	—	—
试剂一	—	—

*详情请参见 www.macklin.cn 或拨打 400-623-8666。

03/ 产品运输和保存条件

【运输】本品冰袋运输。

【保存】2-8℃避光保存，保质期 180 天。

04/ 产品使用说明

1. 样品制备

1.1 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 30d)后再测定。

1.2 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。

1.3 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 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。

2. 操作步骤

2.1 酶标仪预热 30min，调节波长至 515nm。

2.2 取 EP 管按下表操作

成分	空白管	测定管
提取液(μ L)	20	-
样品(μ L)	-	20
试剂一(μ L)	380	380
充分混匀，室温避光反应 20min，取 200 μ L 至酶标板测定 515nm 处吸光值，计算 $\Delta A = A_{\text{空白}} - A_{\text{测定}}$		

3. 总抗氧化能力计算：

3.1 以自由基清除率表示

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

3.2 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(μ mol/mL)

y : 吸光值差值 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

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

(2) 按样本蛋白浓度计算

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

(3) 按细胞计算

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

细胞数量(万个)

(4) 按液体体积计算

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

$V_{\text{总}}$: 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

05/ 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