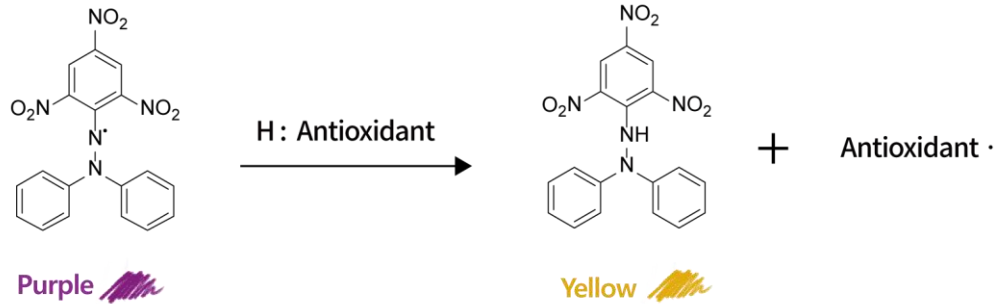


OxiTec™ DPPH Antioxidant Assay Kit

(Colorimetric)

BO-DPH-200/500, 200/500 assays

제품 원리



BIOMAX사의 OxiTec™ DPPH Antioxidant Assay Kit (Colorimetric)에서의 Trolox는 DPPH의 수소 원자를 환원시켜 노란색인 DPPH-H를 형성하며, 이는 흡광도 517 nm에서 측정됩니다.

제품의 구성 및 보관 조건

Components	200 Assays	500 Assays	Storage
DPPH Reagent	2 vials	5 vials	4°C
Assay Buffer	20 ml	50 ml	
Trolox Standard (1 mg)	2 vials	5 vials	

* 개봉하지 않은 제품은 빛을 차단한 상태에서 4°C 보관 시 1년간 안정적입니다.

검사 필요 장비 및 소모품

- ▶ 96-well Microplate (Clear, Flat bottom)
- ▶ Pipette & Sterile tips
- ▶ 8 or 12 Channel micropipette
- ▶ Microtube
- ▶ 99% Ethanol
- ▶ Colorimetric microplate reader (517 nm Filter)
- ▶ Sonicator / Vortexer
- ▶ 15 ml conical tube

DPPH Working solution

- ① Ethanol 1 ml을 DPPH Reagent vial에 넣고 Sonication과 Vortexing을 통해 충분히 녹여줍니다.
- ② DPPH를 녹인 Ethanol을 15 ml Cornical tube에 옮긴 뒤 새로운 Ethanol 1 ml을 DPPH Reagent vial에 넣고 다시 녹여줍니다.
- ③ 첨가한 Ethanol의 색이 투명해질 때까지 위 ①, ②의 과정을 반복합니다.
- ④ Ethanol을 이용하여 15 ml Cornical tube에 최종 10 ml을 맞춰줍니다.

Trolox Standard stock solution

- ① Ethanol 1 ml을 Trolox Standard vial (1 mg)에 첨가 후 Sonication과 Vortexing을 통해 충분히 녹여줍니다.
- ② ①을 15 ml Cornical tube에 옮긴 후 Ethanol 9 ml을 넣어 최종 10 ml을 맞춰줍니다.
(Final concentration **0.1 mg/ml Trolox**)
- ③ 아래 표를 참고하여 각 농도에 맞는 Trolox Standard solution을 제작합니다.

Standard	0.1 mg/ml Trolox(μ l)	Ethanol(μ l)	Final Conc.(μ g/ml)
1	0	1000	0
2	100	900	10
3	200	800	20
4	400	600	40
5	600	400	60
6	800	200	80

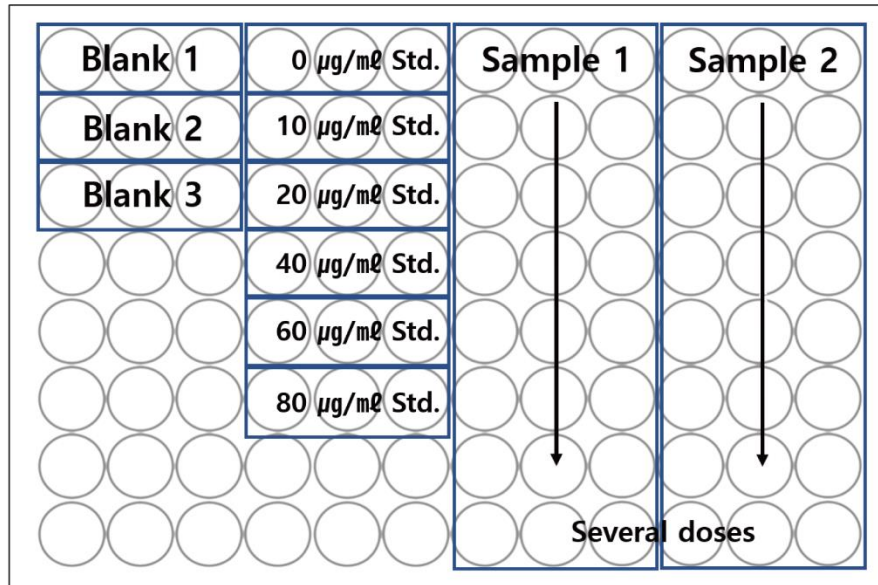
실험 과정

Antioxidant capacity assay

- Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC)는 Trolox Standard와 Sample에 대한 IC_{50} 값을 통해 계산됩니다. (IC_{50} 이란 DPPH-Radical이 50% 소거되는 농도를 뜻합니다.)

* IC_{50} 을 구하기 위해 사전 실험을 통해 Sample의 최적화 농도를 구해야 합니다.

	Sample (μ l)	Trolox Standard (μ l)	Blank 1 (μ l)	Blank 2 (μ l)	Blank 3 (μ l)
Sample solution	20	-	-	-	-
Solvent	-	-	20	20	-
Ethanol	-	-	-	100	120
Trolox Standard solution	-	20	-	-	-
Assay Buffer	80	80	80	80	80
DPPH Working solution	100	100	100	-	-



Blank 1 : Coloring without antioxidant

Blank 2 : Sample solvent blank

Blank 3 : Ethanol blank

- ① Standard well에 농도별 Standard solution을 20 µl씩 넣어줍니다.
- ② Sample well에 농도별 Sample solution을 20 µl씩 넣어줍니다.
- ③ Blank 3 well에 Ethanol 20 µl를 넣어주고 Blank 1, 2 well에는 Solvent (Sample dilution solvent) 20 µl를 넣어줍니다.
- ④ 즉시 각 Well에 Assay Buffer 80 µl를 넣어줍니다.
- ⑤ Blank 2, 3 well에 Ethanol 100 µl씩 넣고 잘 섞어줍니다.
- ⑥ Trolox standards, Sample, Blank 1 well에 DPPH Working solution 100 µl를 넣고 잘 섞어줍니다.
- ⑦ 차광하여 실온에서 30 min 반응시키고 Microplate reader로 흡광도 517 nm에서 측정합니다.

결과 분석

Inhibition ratio of trolox (%) : $\{(A_0 - A_T)/A_0\} \times 100$

A_0 : Abs 0 $\mu\text{g/ml}$ Trolox Standard solution – Blank 3

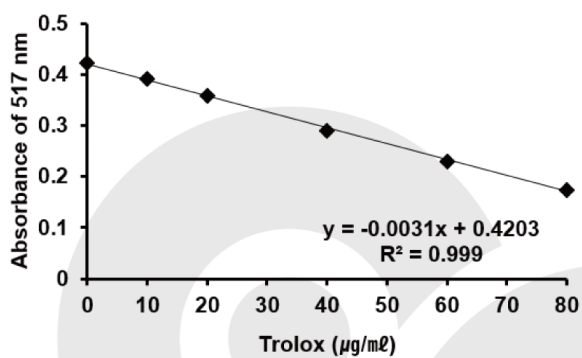
A_T : Abs 10~80 $\mu\text{g/ml}$ Trolox Standard solution – Blank 3

Inhibition ratio of sample (%) : $\{(A_{CS} - A_S)/A_{CS}\} \times 100$

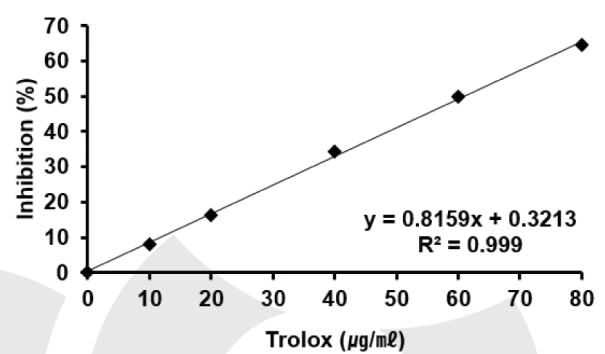
A_{CS} : Blank 1 – Blank 2

A_S : Abs of sample – Blank 2

Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC) = IC_{50} (Trolox) / IC_{50} (Sample)



Trolox standard curve



Inhibition ratio of trolox (%)

Related products

- BO-TAC-200	OxiTec™ Total Antioxidant Capacity Assay Kit (Colorimetric)
- BO-TBR-200	OxiTec™ TBARS Assay Kit (Colorimetric)
- BO-SOD-250/500	OxiTec™ SOD Assay Kit (Colorimetric)
- BO-GLU-200	OxiTec™ Glutathione(GSH/GSSG/Total) Assay Kit (Colorimetric)
- BO-CAT-400	OxiTec™ Catalase Assay Kit (Colorimetric/Fluorometric)
- BO-PER-500	OxiTec™ Hydrogen Peroxide/peroxidase Assay Kit (Colorimetric/Fluorometric)

* 안전한 사용을 위해 유해물질 정보는 MSDS를 참조하십시오.



Homepage : www.biomax.com

Shopping mall : www.biomaxmall.com

E-mail : info@scgbiomax.com

Tel : 02-3296-3158 / Fax : 02-973-2858

(주) 바이오맥스 : 경기 구리시 갈매순환로166번길 46, 금강펜테리움 IX타워 CORE-C, 7층

Note