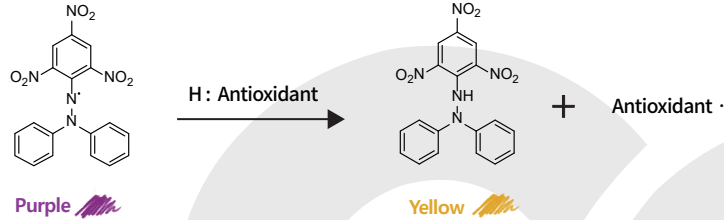


## OxiTec™ DPPH Antioxidant Assay Kit (Colorimetric)

(BO-DPH-200/500, 200/500 assays, Store at 4 °C)

### 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 약 1 년간 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 Conical tube에 옮긴 뒤 새로운 Ethanol 1 mL을 DPPH Reagent vial에 넣고 다시 녹여줍니다.
- ③ 첨가한 Ethanol의 색이 투명해질때 까지 위 ①, ②의 과정을 반복합니다.
- ④ Ethanol을 이용하여 15 mL Conical 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 Conical 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(μL)	Ethanol(μL)	Final Conc.(μg/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

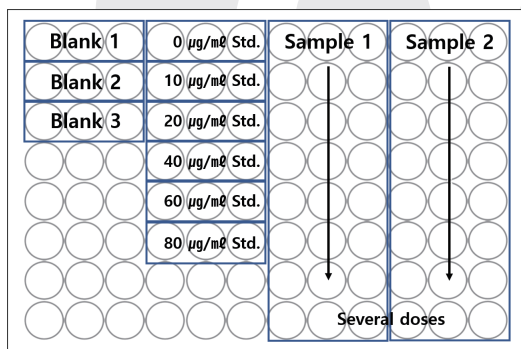
## 실험 과정

### Antioxidant capacity assay

- Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC)는 Trolox Standard와 Sample에 대한 IC<sub>50</sub> 값을 통해 계산됩니다. (IC<sub>50</sub>이란 DPPH-Radical이 50% 소거되는 농도를 뜻합니다.)

\* IC<sub>50</sub>을 구하기 위해 사전 실험을 통해 Sample의 최적화 농도를 구해야 합니다.

	Sample (μL)	Trolox Standard (μL)	Blank 1 (μL)	Blank 2 (μL)	Blank 3 (μL)
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 μL을 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<sub>0</sub> : Abs 0 μg/mL Trolox Standard solution – Blank 3

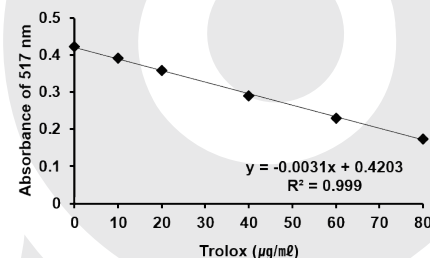
A<sub>T</sub> : Abs 10~80 μg/mL Trolox Standard solution – Blank 3

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

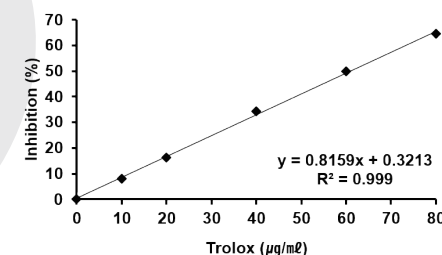
A<sub>CS</sub> : Blank 1 - Blank 2

A<sub>S</sub> : Abs of sample - Blank 2

**Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC) = IC<sub>50</sub> (Trolox) / IC<sub>50</sub> (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.