کیت سنجش ظرفیت آنتی اکسیدانتی تام

Naxifer™ (Total Antioxidant Capacity Assay Kit)

مقدمه:

تولید رادیکال آزاد و گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن یکی از مسائل غیر قابل اجتناب در فرآیند متابولیسم محسوب می‌شود. شواهد بیوشیمیایی، زیستی و بالینی فراوان وجود دارد که نشان می‌دهد واکنش اکسایشی ناشی از رادیکال‌های آزاد که سایتوتوکسیک است، در ایجاد بیماری‌های مختلف همچون سرطان، دیابت، بیماری‌های قلبی و عروقی، آترواسکلروزیس و بیماری‌های عصبی، تسریع پیری و در مورد مواد غذایی، در فساد آن‌ها دخالت دارد. در سال‌های اخیر به دلیل خاصیت آنتی اکسیدانت‌ها در ممانعت از اثرات رادیکال آزاد در ایجاد بیماری‌ها و فساد مواد غذایی، نقش و اثر آنتی‌اکسیدانت‌ها مورد توجه محققین، پزشکان و عموم مردم قرار گرفته است و مطالعات ارزیابی ظرفیت آنتی‌اکسیدانتی یکی از متداول‌ترین موضوعات مورد بررسی در تحقیقات علوم زیستی و پزشکی بوده است.

کیت Naxifer™، ظرفیت آنتی‌اکسیدانتی بیومولکول‌ها را، در نمونه‌های مختلف، بر اساس توانایی احیاءکنندگی آهن دو ظرفیتی (FRAP) و با مکانیسم انتقال تک الکترون اندازه‌گیری می‌کند. تغییر رنگ حاصل از واکنش در طول موج ۵۹۳ نانومتر اندازه‌گیری شده و برای به دست آوردن مقدار کمی ظرفیت آنتی‌اکسیدانتی باید از استاندارد و نمودار حاصل از آن استفاده شود. کیت Naxifer™ روشی سریع، ارزان و قابل دسترس برای اندازه‌گیری ظرفیت آنتی‌اکسیدانتی تام در نمونه‌های مختلف که شامل سرم، پلاسما، لیز سلول، ادرار، بافت هموژن شده، مواد غذایی و نوشیدنی‌ها در دسترس محققین می‌باشد.

مراحل انجام آزمایش:

۱) آماده‌سازی نمونه‌های بافتی:

برای لیز نمونه‌های بافتی از محلول ۱/۱۵ درصد کلریدپتاسیم (۱/۱۵ گرم کلریدپتاسیم در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر) استفاده شود، بدین صورت که از نمونه بافتی در حدود ۵۰ تا ۱۰۰ میلی‌گرم وزن کرده و ۱۰ برابر وزن آن، محلول کلریدپتاسیم اضافه کنید. سپس توسط هموژنایزر شیشه‌ایی (استفاده از هموژنایزر نوند سلامت با کد محصول ۱۶۰۱۰ پیشنهاد می‌گردد) نمونه مورد نظر را هموژنایز نمایید. در مرحله بعد، نمونه را در ۱۲۰۰ دور به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ کنید (نوند سلامت در این مرحله استفاده از سانتریفیوژ یخچال‌دار را توصیه می‌کند) و مایع رویی را جدا کنید. این مایع به عنوان نمونه مورد استفاده قرار خواهد گرفت.

۲) آماده سازی محلول کار:

نیم ساعت قبل از شروع آزمایش معرف‌ها را به دمای اتاق رسانده و در صورت مشاهده کریستال، به‌وسیله ورتکس محلول را همگن کنید. در ابتدا ۵ میلی‌لیتر از معرف R2b را به هر بطری R2a اضافه نمائید و تا حل شدن کامل پودر داخل R2a، کاملا ورتکس نمایید. پس از حل شدن کامل پودر، محلول R2 آماده است که هر بطری برای ۵۰ نمونه کافی خواهد بود. معرف‌های R2 آماده شده را به نسبت ۱:۱ با معرف R3 مخلوط و پس از ورتکس، ۵ برابر حجم آن محلول R1 را اضافه کنید.محلول نهایی به‌عنوان محلول کار استفاده خواهد شد (ماندگاری محلول کار در یخچال ۲۴ ساعت است).

مثال: اگر ۱۰ نمونه مورد آزمایش دارید، نسبت‌های مورد استفاده بدین صورت خواهد بود:

$$(R2_{1\,cc} + R3_{1\,cc}) + R1_{10\,cc}$$

۳) روش کار

مقدار ۲۰ میکرولیتر از نمونه یا محلول استاندارد(Standard solution) را با یک میلی‌لیتر از محلول کار آماده شده مخلوط کرده و بلافاصله پس از انجام ورتکس، در زمان‌های صفر و ۴ دقیقه در طول موج ۵۹۳ نانومتر در مقابل بلانک (محلول کار) قرائت نمائید.

۴) فرمول محاسبه ظرفیت آنتی اکسیدانتی تام*:

$$\frac{(4\text{ min OD593 nm} - 0\text{ min OD 593 nm})\text{Test}}{\text{OD STD 593 nm}} \times 10 = \text{mmol/L Fe(II)}$$

***برای راحتی کار می‌توانید از محاسبه‌گر آنلاین که در صفحه اینترنتی navandsalamat.com وجود دارد، استفاده نمائید.**

Navand Lab Kit

تلفن تماس: ۰۹۰۱۴۱۱۴۰۹۷ وبسایت: www.navandsalamat.com ایمیل: navandsalamat@gmail.com

آدرس: ارومیه، کیلومتر ۱۱ جاده سرو، پارک علم فناوری آذربایجان غربی، شرکت نوند سلامت – کدپستی: ۵۷۵۶۱۱۵۳۲۳