PTIO Radical Scavenging Assay Kit

PTIO自由基清除能力试剂盒说明书

方法：可见分光法　规格：48样

一、产品简介：

PTIO 自由基清除能力检测是一种体外抗氧化活性评价方法，通过测量样品清除特定自由基的效率，来量化其抗氧化能力的强弱。

PTIO自由基在557nm处有强吸收峰。当样品中存在抗氧化成分时，会清除PTIO自 由基，导致溶液吸光度（A557nm) 下降，下降程度与清除能力成正比。

二、试剂盒的组成和配制：

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体60mL×1瓶	4℃保存	
试剂一	液体60mL×1瓶	4℃保存	
试剂二	粉剂mg×2支	4℃保存	**用前甩几下使粉剂落入底部，每支加**0.5mL无水乙醇完全溶解。溶解完的可分装避光保存，避免反复冻融。
标准品	粉剂mg×1支	4℃保存	若重新做标曲，则用到该试剂。

制备**工作液**：试剂一：溶解好的试剂二=19:1做为工作液使用，即溶解好的试剂二用试剂一稀释20倍，用多少配制多少**工作液**，配制好的工作液一周内用完。

三、所需的仪器和用品：

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿(光径1cm)、低温离心机、可调式移液器、研钵、无水**乙 醇**和蒸馏水。

四、PTIO自由基清除能力测定：

建议正式实验前选取2个样本做预测定，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费！

1、样本制备：

①组织样本：称取约0.1g新鲜组织或者称取约0.05g 烘干样本(将样本在105℃下杀青3min, 然后60℃烘干至恒重，粉碎，过40目筛，得到烘干样本),加入1mL 的提取液研磨匀浆；12000rpm室温离心10min, 取上清测定。

【注】:若样本油脂含量较高(如花生，肝脏)则将在提取步骤中将提取液换成80% 乙醇。
若增加样本量，可按照组织质量（g): 提取液体积(mL)为1:5~10的比例进行提取。

②细菌/细胞样本：先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；取500万细菌或细胞加入1mL 的提取液进行匀浆；12000rpm, 离心10min, 取上清置冰上待测。

【注】:若增加样本量，可按照细菌/细胞数量(10^4个) : 提取液(mL)为1000~5000:1比例进行提取。

③液体样本：直接检测；若浑浊，离心后取上清检测。

2、上机检测：

①分光光度计预热30min 以上，调节波长至557nm, 蒸馏水调零。

②不同样本清除能力不一，**可先选取**2个样本做检测，稀释倍数D 代入公式计算。

③在EP管中依次加入：

试剂名称（μL)	测定管	对照管	空白管(仅做一次)
样本	200	200	
提取液	250	570	450
试剂一	320		320

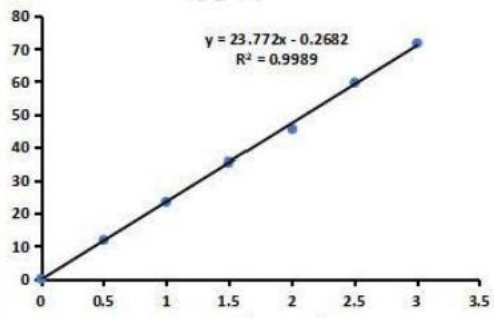
本产品仅供科研使用，不得用于临床诊断或治疗。

混匀，37℃避光静置30min,转移全部液体至1mL玻璃比色皿(光径1cm)中，于557nm处读取吸光值A。

注意：本操作流程适用于绝大多数常规样本检测，实验条件可根据实际样本状态适度微调；针对特殊类型样本，我司技术支持可提供专属优化建议。

五、结果计算：

1、标准曲线：y=23.772x-0.2682,x 是标准品 Trolox 的浓度(mg/mL),y 是清除率(%)。



标准曲线示意图

说明：标准曲线由标准品测定获得，具体制作方法详见随货说明书或咨询技术支持。

2、PTIO自由基清除率(%)=[(1-(A测定-A对照)÷A空白)×100]%,最好在(10-90%之间)。

3、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PTIO自由基清除能力。

4、按样本质量计算：

PTIO自由基清除能力(mgTrolox/g鲜重)=[(清除率+0.2682)÷23.772×0.2]÷(V1÷V×W)×D

=0.042×(清除率+0.2682)÷W×D

举例：若清除率是70%,则用70代入公式计算，即：

PTIO自由基清除能力(mg Trolox/g鲜重)=0.042×(70+0.2682)÷W×D

5、按细菌或细胞数量计算：

PTIO自由基清除能力(μg Trolox/10^4cell)=[(清除率+0.2682)÷23.772×0.2]÷(V1÷V×500)×D

=0.042×(清除率+0.2682)÷500×D

举例：若清除率是70%,则用70代入公式计算，即：

PTIO自由基清除能力(mg Trolox/10^4cell)=0.042×(70+0.2682)÷500×D

6、液体样本：

PTIO自由基清除能力(mg Trolox/mL)=[(清除率+0.2682)÷23.772×0.2]÷V1×D

=0.042×(清除率+0.2682)×D

举例：若清除率是70%,则用70代入公式计算，即：

PTIO自由基清除能力(mg Trolox/mL)=0.042×(70+0.2682)×D

V--加入提取液体积，1mL; V1---反应中样品体积，200μL=0.2mL;

0.2—做标曲时加样体积，mL; W---样品质量，g; Trolox分子量—250.29;

500—细菌或细胞总数，万； D---稀释倍数，未稀释即为1;

本产品仅供科研使用，不得用于临床诊断或治疗。