**TAS ÇALIŞMA YÖNTEMİ:**

TAS ölçümü Relassay marka ticari kit ile yapıldı (Relassay,Turkey)

**Test çalışma prensibi:** Numunedeki antioksidanlar koyu mavi-yeşil renkli ABTS radikal solüsyonunu, renksiz ABTS formuna çevirir. 660nm absorbansdaki değişim total antioksidan miktarıyla alakalıdır. Kitin kalibrasyonu E vitamini benzeri Trolox Equivalent adı verilen stabil antioksidan standardı ile yapılır.

**Bileşenler:**

Tüm reaktifler ve standartlar kullanıma hazırdır.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Reagent 1 | | Buffer Solution | |
| Acetate Buffer | | 0.4 mol/L pH5.8 | |
| Reagent 2 | | Prochromogen Solution | |
| ABTS | | 30 mmol/L | |
| Standard | Trolox | | 1 mmol / L |
| QC Level 1 | Trolox | | 0.5 mmol / L |
| QC Level 2 | Trolox | | 2.0 mmol / L |

**Numune Çalışması:** Numuneler Relassay kiti ile Mindray BS300 cihazında tam otomatik olarak çalışıldı.

Çalışma adımları:

Otomatik cihaz tarafından Reaktif 1’den 300 μl alındı, numuneden 18 μl alındı ardından küvet içinde karıştırılıp 30 saniye sonra ilk okuma 660nm yapıldı ardından reaktif 2’den 45 μl karıştırıldı ve inkübatörde 5 dakika bekletilip ikinci okuma 660nm yapıldı.

**TOS ÇALIŞMA YÖNTEMİ:**

TOS ölçümü Relassay marka ticari kit ile yapıldı (Relassay,Turkey)

**Çalışma prensibi:**Numunedeki oksidanlar ferrik iyonla tümleşik ferröz iyon-kıskacını oksitler. Oksidasyon reaksiyonu reaksiyon ortamında bol miktarda bulunan çoğaltan moleküller ile prolonje edilir. Ferrik iyon asidik ortamda kromojen ile renkli bir bileşik oluşturur. Spektrofotometrede ölçülen rengin koyuluğu numunedeki oksidan moleküllerinin toplam miktarını verir. Kitin kalibrasyonu hidrojen peroxit ile yapılır, sonuçlar litre başına düşen mikromol hidrojen peroksit olarak verilir. (μmol H2O2 Equiv./L)

**Bileşenler**

Tüm reaktifler ve standartlar kullanıma hazırdır.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Reagent 1 | | Buffer Solution | |
| H2SO4 | | 25mM pH1.75 | |
| Reagent 2 | | Substrate Solution | |
| H2SO4  Ferrous ion  O-dianisidine | | 25mM pH1.75  5 mM  10nM | |
| Standard | H202 | | 10 μmol/L |
| QC Level 1 | H202 | | 5 μmol/L |
| QC Level 2 | H202 | | 20 μmol/L |

**Numune Çalışması:** Numuneler Relassay kiti ile Mindray BS300 cihazında tam otomatik olarak çalışıldı.

Çalışma adımları:

Otomatik cihaz tarafından Reaktif 1’den 300 μl alındı, numuneden 45 μl alındı ardından küvet içinde karıştırılıp 30 saniye sonra ilk okuma 530nm yapıldı ardından reaktif 2’den 15 μl karıştırıldı ve inkübatörde 5 dakika bekletilip ikinci okuma 530nm yapıldı.

**TOPLAM FENAOLİK MADDE TAYİNİ ANALİZİ:**

1- 5ml'lik Cam tüpe 3.75ml distile su konuldu

2- 50ul ekstrak eklendi

3- 250ul folin ayrcaı eklendi

4- Tüp 1dk boyunca çalkalandı

5- 3dk. Oda ısısında bekletildi.

6- 500ul doymuş sodyum karbonat çözeltisi eklendi

7- 45ul distile su eklendi.

8- Tüp 1 dk. Boyunca çalkalandı.

9- Tüp 60 dk boyunca oda ısısında bekletildi.

10- Oluşan mavi renkli çözeltinin absorbansı 720 veya 640nm de ölçülür.

Standart Eğrisi:

Gallik Asit ile aşağıdaki oranlarda konsatrasyonlar hazırlandı ve yukarıdaki test prosedürüne tabi tutuldu.

40mg/L,80mg/L,120mg/L,160mg/L,200mg/L,250mg/L,300mg/L