

Pomiar całkowitej zdolności antyoksydacyjnej naparów metodą Folina-Ciocalteu

Wolne rodniki są wysoce reaktywnymi i niebezpiecznymi cząstkami, którym ostatnio przypisuje się kluczową rolę w patogenezie tzw. chorób cywilizacyjnych. Ich wszechobecność powoduje, że żyjemy w chronicznym stresie oksydacyjnym, który jest przyczyną przeciążenia i nieskuteczności naturalnych systemów obronnych organizmów. Wtórne metabolity roślinne obecne w diecie i ekstraktach z roślin leczniczych często wykazują silne właściwości antyoksydacyjne. Istnieje szereg metod pomiaru tej aktywności. Najbardziej rozpowszechnione jest stosowanie tzw. metod *in vitro* (np. DPPH, ABTS, F-C, DMPD).

Celami ćwiczenia jest oznaczenie aktywności przeciwutleniającej naparów kawy lub herbaty

1. Odczynniki, sprzęt i aparatura

- ❖ zlewki o pojemności 250 ml,
- ❖ spektrofotometr,
- ❖ kuweta kwarcowa,
- ❖ waga,
- ❖ pipety,
- ❖ kolbki miarowe
- ❖ Odczynnik Folin-Ciocalteu (F-C)
- ❖ Kwas kawowy
- ❖ 0,71 mol/l Na_2CO_3 (35 g/250 ml)
- ❖ herbata, kawa
- ❖ metanol

2. Wykonanie oznaczenia:

Przygotowanie krzywej wzorcowej

Przygotować roztwór wyjściowy kwasu kawowego o stężeniu 30 mg/5 ml w metanolu. Następnie poprzez kolejne rozcieńczenia roztworu wyjściowego sporządzić roztwory o stężeniach: 0; 12; 24; 36; 50; i 60 $\mu\text{g}/10$ ml. Do kolbki odmierzyć odpowiednią ilość wzorca, a następnie dodać 500 μl roztworu F-C i pozostawić próbkę na 3 min w ciemności. Następnie dodać 1 ml 0,71 mol/l Na_2CO_3 i uzupełnić kolbkę do kreski wodą. Zmierzyć absorbancję przygotowanych roztworów przy długości fali 765 nm po 30 minutach od momentu przygotowania próbek. Następnie sporządzić krzywą wzorcową.

Przygotowanie badanej próbki herbaty (kawy)

Na wadze analitycznej odważyć do zlewki ok. **0.2 g herbaty (kawy)**, zalać 100 ml gorącej wody destylowanej, przykryć szkiełkiem zegarkowym i pozostawić do zaparzenia na 20 min.

Napary herbaty (kawy) przesączyć przez sącdek bibułowy. Pobrać **500 µl** przesączu i przenieść do kolbki na 10 ml, dodać 500 µl F-C i pozostawić próbkę na 3 min w ciemności. Następnie dodać 1 ml 0,71 mol/l Na₂CO₃ i uzupełnić kolbkę do kreski wodą. Zmierzyć absorbancję przygotowanych roztworów przy długości fali 765 nm po 30 minutach od momentu przygotowania próbek.

3. Obliczenie zdolności antyoksydacyjnej

Aktywność antyoksydacyjną wyrazić jako zawartość kwasu kawowego w mg/100 g kawy lub herbaty.