

ANTIOXIDANȚI NATURALI CA ADITIVI ALIMENTARI (acid ascorbic, E200)

Antioxidanții sunt substanțe ce se opun oxidării sau inhibă reacțiile inițiate de oxigen sau peroxizi, multe din aceste substanțe (cum sunt tocoferolii) fiind folosite drept conservanți în diferite produse (grăsimi, produse alimentare, săpunuri). În industria chimică, antioxidanții se referă de obicei la compuși ce întârzie autooxidarea unui produs chimic. Autooxidarea este cauzată în primul rând de reacțiile dintre oxigen și substrat. În general, produsele naturale pot servi ca surse de antioxidanți naturali.

Efectele globale ale antioxidanților naturali depind de absorbția hidrogenului fenolic în reacțiile radicalice, de stabilitatea radicalului antioxidant natural format în timpul reacțiilor radicalice și de substituenții prezenți în structură. Aceștia sunt probabil contribuția cea mai semnificativă a capacității antioxidanților naturali de a participa la controlul reacțiilor radicalice.

Este important să se cunoască capacitatea antioxidantă și constituenții produselor alimentare pe care le consumăm. Datorită complexității compoziției alimentelor, separarea fiecărui antioxidant și studierea lui individuală este costisitoare și ineficientă, în ciuda interacțiunilor între compușii antioxidanți dintr-un amestec alimentar.

Importanța conținutului de antioxidanți în alimente este foarte bine apreciată atât pentru conservarea alimentelor cât și pentru menținerea antioxidanților *in vivo*. Prin dezvoltarea experimentală, clinică și epidemiologică se pot demonstra efectele benefice ale antioxidanților împotriva oxidării degenerescente, bolilor datorate vârstei, cancerului; importanța și rolul antioxidanților a primit o atenție deosebită.

Suntem protejați împotriva forțelor oxidative cu ajutorul unor diverși antioxidanți care au diferite funcții. Câțiva sunt enzime și proteine și alții sunt mici molecule antioxidante. Alimentele sunt considerate surse esențiale de antioxidanți.

Dintre numeroșii antioxidanți sintetici care au fost dezvoltați, câțiva dintre ei au fost folosiți în practică, ca de exemplu, aditivi alimentari, suplimente și medicamente. Compușii fenolici cum ar fi vitamina E și flavonoidele sunt antioxidanți tipici. Numeroși compuși fenolici au fost deasemenea sintetizați. Ca atare, antioxidanții naturali sunt acceptați înaintea celor sintetici.

Autooxidarea, inițiată de un compus azo și acțiunea inhibitorilor săi include următorii pași elementari (se consideră un antioxidant, doi radicali și oxigenul în exces, unde AH=antioxidant, LH=substrat, R₂N₂=compus azo):

Inițiere:



Propagare:



Inhibiție:



Încheiere:



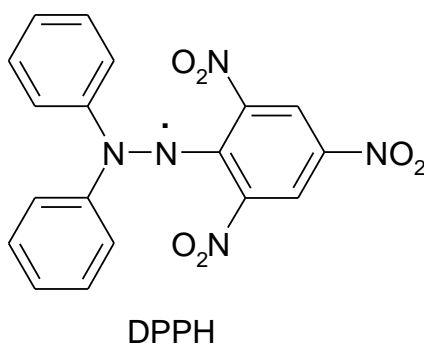
Viteza de formare a peroxidului inhibat (R_{inh}) și cel neinhibat (R_{neinh}) sunt exprimate prin următoarele ecuații:

$$R_{uninh} = \{k_3/2k_8\}^{1/2} [LH]R_i^{1/2} \quad (9)$$

$$R_{inh} = \{k_3 [LH]R_i\}/nk_6[AH] \quad (10)$$

unde k_3 , k_6 , k_8 reprezintă constantele de viteză pentru propagare, inhibiție și încheiere. Un radical care rupe catena ar trebui să reacționeze mai repede cu radicalii ($k_6 > k_3$), pe când un radical antioxidant ($A\cdot$) nu reacționează sau reacționează mai încet cu LH.

Determinarea activității antioxidante cu DPPH. DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) este unul dintre radicalii organici cu azot cei mai stabili și disponibili comercial și are o absorbție maximă în UV-VIS la 517 nm. În momentul reducerii soluția se decolorează, iar înaintarea reacției este monitorizată spectrofotometric. În acest mod se poate evalua capacitatea antioxidantă a unui sistem.



Obiectiv

Evaluarea activității antioxidante a unui aditiv natural (acid ascorbic, vitamina C, E200) utilizând metoda cu DPPH și determinarea vitezei de reacție a antioxidantului cu DPPH.

Mod de lucru

Determinarea activității antioxidante se va face pentru soluții apoase de acid ascorbic (vitamina C) de concentrații 1, 0.1, 0.01 și 0.001mM, față de o soluție martor ce nu conține aditiv.

Analiza spectrofotometrică

În cazul acestor soluții, analiza activității antioxidante se realizează cu ajutorul unui spectrofotometru CamSpec M501, iar datele obținute au se prelucrează cu ajutorul programului Analyst ver. 4.67, CamSpec Ltd. Activitatea antioxidantă se determină astfel: în cuva pentru probă se introduc 2 ml EtOH 96% și 0.5 ml soluție de vitamina C, apoi 0.5 ml soluție DPPH 1mM și se începe înregistrarea. Amestecul de reacție conține etanol, DPPH 1mM și probele de testat. După amestecare, se înregistrează absorbanta la 517 nm. Soluția se decolorează în timp pe măsură ce DPPH reacționează cu radicalii liberi din sistem, iar înaintarea reacției este monitorizată spectrofotometric. Toate citirile se fac față de EtOH 96% ca referință.

Calculul activității antioxidante

Activitățile antioxidante ale probelor se evaluează din curbele de dependență a absorbantei relative ($A\%$) ca raport dintre absorbanta la timpul t și absorbanta inițială ($t = 0$) (corespunzătoare soluției martor):

$$A\%(t) = \frac{A_{517nm}(t)}{A_{517nm}(t=0)} \cdot 100$$

Cu cât $A\%$ este mai mică, activitatea antioxidantă a probei studiate este mai mare.

Evaluarea vitezei de reacție

Evaluarea vitezelor de reacție a DPPH-ului în prezența probelor studiate necesită obținerea unei curbe de etalonare $Absorbantă(517\text{ nm}) = f(\text{concentrație, mM})$ (figura 1).

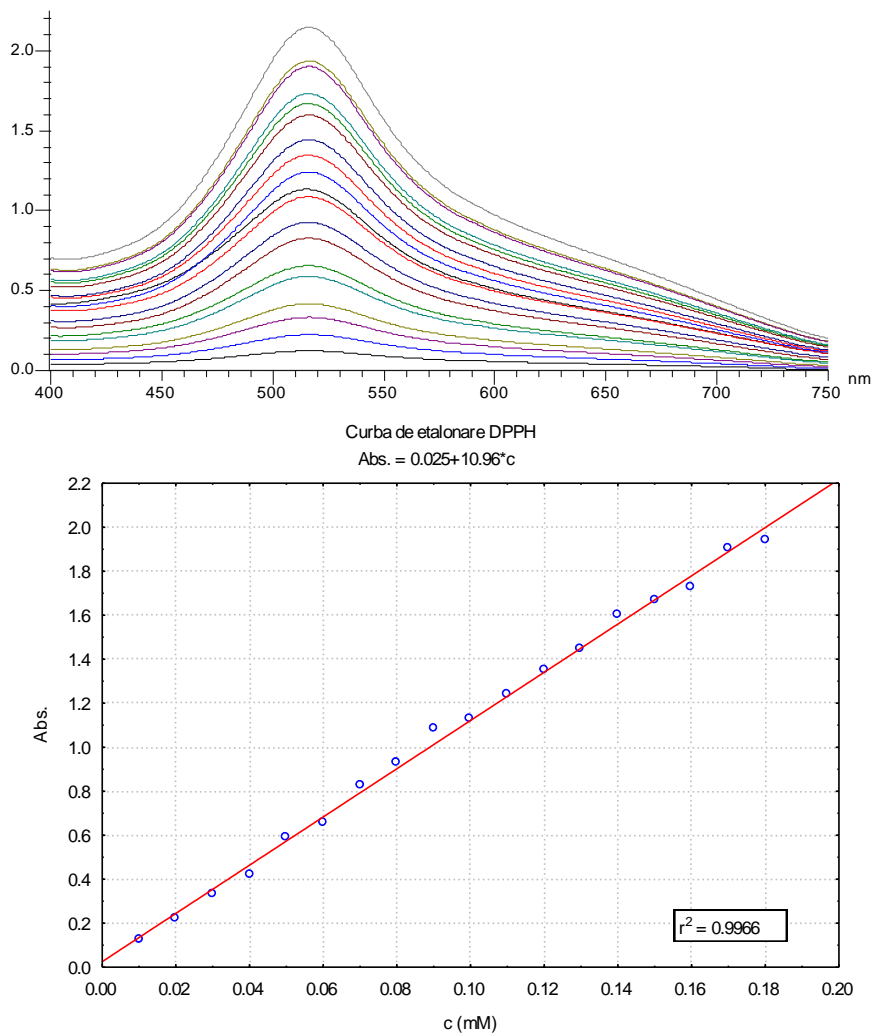


Figura 1. Spectrele UV-VIS pentru soluțiile etalon de DPPH și curba de etalonare $Abs = f(c, mM)$

Pe baza acestor variații ale absorbanelor soluțiilor de DPPH în prezența probelor de vitamina C în timp, respectiv a curbei de etalonare a DPPH $Abs(517nm) = f(conc., mM)$ se poate determina variația concentrației de DPPH în timp, respectiv se pot evalua vitezele medii de reacție ale DPPH pe porțiunile pseudoliniare ale curbelor $concentrație (\mu M) = f(timp, s)$, conform relației:

$$v = -\frac{dc_{DPPH}}{dt} \quad (\mu M/s)$$

unde: v – viteza medie de reacție a DPPH ($\mu M/s$);

dc_{DPPH}/dt – derivata de ordinul întâi a concentrației de DPPH în timp.

Din ecuația dreptei: $c(\mu M) = a - b \cdot t(s)$, rezultă $dc/dt = -b$, deci viteza medie pe porțiunea pseudoliniară a curbei va fi chiar panta cu semn schimbat a ecuației drepte de mai sus.