



**Warszawski Uniwersytet Medyczny w Warszawie**

**Zakład Chemii Fizycznej, Wydział Farmaceutyczny,  
ul. Banacha 1, 02-097 Warszawa, tel/fax :(22) 5720-950**

Warszawa, dn. 17.08.2010

**Badanie pojemności antyoksydacyjnej produktu  
Gano Schokolade  
metodą fluorymetryczną, test ORAC-FL**

**Produkt**

Gano Schokolade

**Przeprowadzone badania**

**Test na zdolność zmiatania rodnika ROO $\cdot$  metodą ORAC-FL**

**1. Opis stosowanej metody badania zdolności zmiatania rodników.**

W metodzie ORAC-FL mierzony jest zanik fluorescencji fluoresceiny w wyniku reakcji z rodnikami generowanymi w wyniku rozkładu termicznego azoinicjatora AAPH (2,2'-azobis(2-amidinopropane) dihydrochloride). Obecność antyoksydantu chroni fluoresceinę przed utlenianiem, opóźniając tym samym zanik fluorescencji [1]. Zaletą metody jest uwzględnienie zarówno stopnia, jak i czasu inhibicji utleniania substancji modelowej (fluoresceina) przez rodniki, a także wykorzystanie rodników nadtlenkowych, jakie występują w organizmach żywych.

Intensywność fluorescencji jest rejestrowana w funkcji czasu w obecności antyoksydantu i bez jego dodania, a różnica pola powierzchni pod oboma krzywymi jest miarą pojemności antyoksydacyjnej próbki. Wartości ORAC wyraża się w odniesieniu do standardu, jakim jest Trolox (rozpuszczalny w wodzie analog witaminy E) – określane są one na podstawie krzywej wzorcowej, sporządzonej dla różnych stężeń Troloxu, i wyrażone w ekwiwalentach (równoważnikach) Troloxu (TE), zwykle w mikromolach Troloxu na gram suchej masy lub litr w przypadku próbek ciekłych. Obecnie zgromadzono dane dla wielu rodzajów produktów żywnościowych (owoce, warzywa, zioła, przyprawy i inne) [2,3].

[1] Ou B., Hampsch-Woodill M., Prior RL (2001) Development and Validation of an Improved Oxygen Radical Capacity Assay Using Fluorescein as the Fluorescent Probe. J. Agric. Food Chem. 49; 4619-4626

[2] X. Wu et al. Development of a database for total antioxidant capacity in foods: a preliminary study. *Journal of Food Composition and Analysis* 17 (2004) 407–422

[3] Oxygen Radical Absorbance Capacity of Selected Foods - 2007; Nutrient Data Laboratory, Agricultural Research Service, *United States Department of Agriculture*, November 2007

## 2. Wykonanie pomiarów

### Charakterystyka pomiaru

Pomiary wykonano na spektrometrze luminescencyjno-fluorescencyjnym Perkin-Elmer LS 55, parametry pomiaru:

- Długość fali promieniowania wzbudzającego 485 nm
- długość fali mierzonego promieniowania emitowanego 520 nm
- Całkowity czas pomiaru 90 minut
- Odstęp między pojedynczymi pomiarami: 1 minuta
- temperatura pomiaru 37°C

### Preparatyka:

Przygotowano świeże roztwory fluoresceiny (80 nM) i AAPH (40 nM) w buforze PBS o pH 7,4. Do kuwety do pomiarów fluorescencyjnych pobrano 1800 µl roztworu fluoresceiny i 300 µl buforu (do pomiaru krzywej odniesienia, bez dodatku antyoksydantu) lub badanego produktu 'Gano Schokolade', przygotowanego zgodnie z informacją na opakowaniu, rozcieńczonego 900-krotnie. Po 10 minutach termostatowania w temperaturze 37 °C dodano 900 µl roztworu AAPH i rozpoczęto pomiary fluorescencji.

Pomiar powtórzono trzykrotnie.

## 3. Wyniki

Pole powierzchni pod krzywą zaniku fluorescencji zostało obliczone z wykorzystaniem programu MS Excel, a różnica między polem pod krzywą zarejestrowaną w obecności badanego preparatu i krzywej odniesienia została odniesiona do krzywej wzorcowej.

### **Preparat:**

Gano Schokolade - **wartość ORAC-FL:** 12822 TE µmol na porcję napoju (200 ml)

co odpowiada: ok. 92 wartościom ORAC-FL dziennej dawki witaminy C (75 mg).

pomiary wykonała  
dr inż. Joanna Celińska

KIEROWNIK  
Zakładu Chemii Fizycznej  
  
Prof. n. dr hab. chem. Iwona Wawer