

CORSO DI LAUREA IN BIOLOGIA PER LA SOSTENIBILITÀ



METODOLOGIE BIOANALITICHE ***Modulo B (6 CFU)***

LEZIONE 4

Prof. Paola Di Donato

Dipartimento di Scienze e Tecnologie

Stanza 520, V piano lato NORD

Tel. 081 547 6625

E-mail: paola.didonato@uniparthenope.it

METODOLOGIE PER IL DOSAGGIO DI SOSTANZE ANTIOSSIDANTI

Metodo del radicale stabile DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)

**Un esempio pratico: il dosaggio del potere
antiossidante di acidi umici incapsulati in
nanoparticelle**

Un esempio pratico: studio delle proprietà antiossidanti degli acidi umici

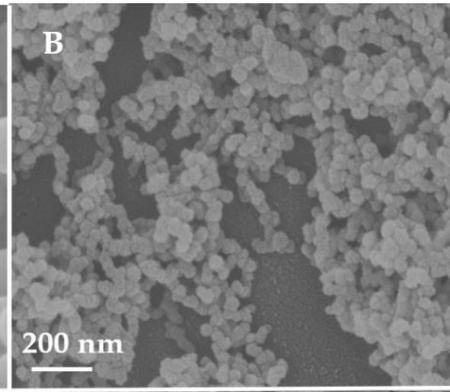
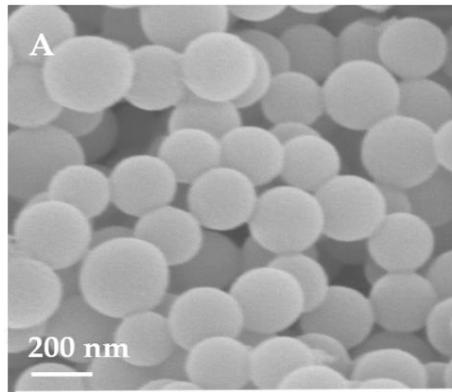
Possono agire da donatori di atomi di idrogeno?

Possono dare luogo a fenomeni di aggregazione in soluzione acquosa → incapsulati in nanoparticelle di silicio

METODOLOGIE PER IL DOSAGGIO DI SOSTANZE ANTIOSSIDANTI

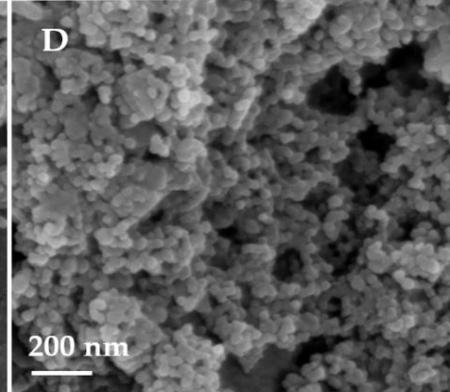
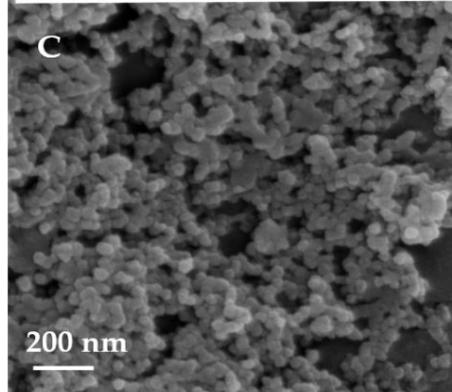
Un esempio pratico: studio delle proprietà antiossidanti degli acidi umici

Nanoparticelle di silicio (NP)



NP + acidi umici da deiezioni animali

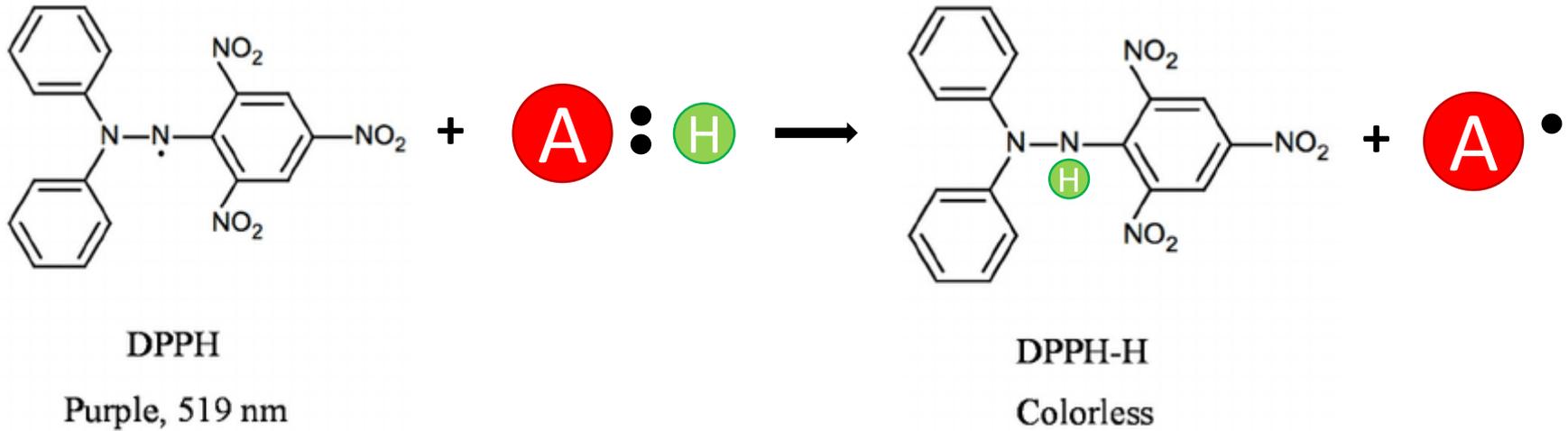
NP + acidi umici da residui di caffè



NP + acidi umici da residui di carciofo

METODOLOGIE PER IL DOSAGGIO DI SOSTANZE ANTIOSSIDANTI

Metodo del radicale stabile DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)



METODOLOGIE PER IL DOSAGGIO DI SOSTANZE ANTIOSSIDANTI

Metodo del radicale stabile DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)

Messa a punto dell'esperimento:

3. Elaborazione dei dati sperimentali

- Il potenziale antiossidante viene espresso come capacità Trolox equivalenti (TEAC)
- Si effettua il confronto con una opportuna curva di calibrazione
- Il potere antiossidante viene misurato come valore percentuale d'inibizione, secondo la formula:

$$\text{Inibizione \%} = (1 - A_s/A_0) \times 100$$

- dove A_0 è l'assorbanza del radicale DPPH e A_s è l'assorbanza dopo l'aggiunta del campione o dello standard.

METODOLOGIE PER IL DOSAGGIO DI SOSTANZE ANTIOSSIDANTI

Metodo del radicale stabile DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)

Messa a punto dell'esperimento:

3. Elaborazione dei dati sperimentali

Vogliamo identificare la concentrazione in grado di
inibire per il 50% il radicale DPPH

IC₅₀ Ovvero la concentrazione della sostanza in esame necessaria per inibire il 50% della molecola usata come probe per la valutazione del potere antiossidante

METODOLOGIE PER IL DOSAGGIO DI SOSTANZE ANTIOSSIDANTI

Metodo del radicale stabile DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)

Messa a punto dell'esperimento:

3. Elaborazione dei dati sperimentali

Concentrazione	A @ 519nm				$A_s/A_0 \times 100$	% inibizione
	Valore 1	Valore 2	MEDIA	DV STD		
CONTROLLO (A_0)	0,658	0,655	0,656	0,012	100,0	
Campione (A_s)	Valore 1	Valore 2	MEDIA	DV STD		
1000 $\mu\text{g/ml}$	0,962	0,984	0,973	0,016	89,4	10,5
750 $\mu\text{g/ml}$	0,829	0,820	0,825	0,006	86,5	13,5
500 $\mu\text{g/ml}$	0,677	0,672	0,675	0,004	89,0	10,9
250 $\mu\text{g/ml}$	0,530	0,530	0,530	0,000	90,7	9,27

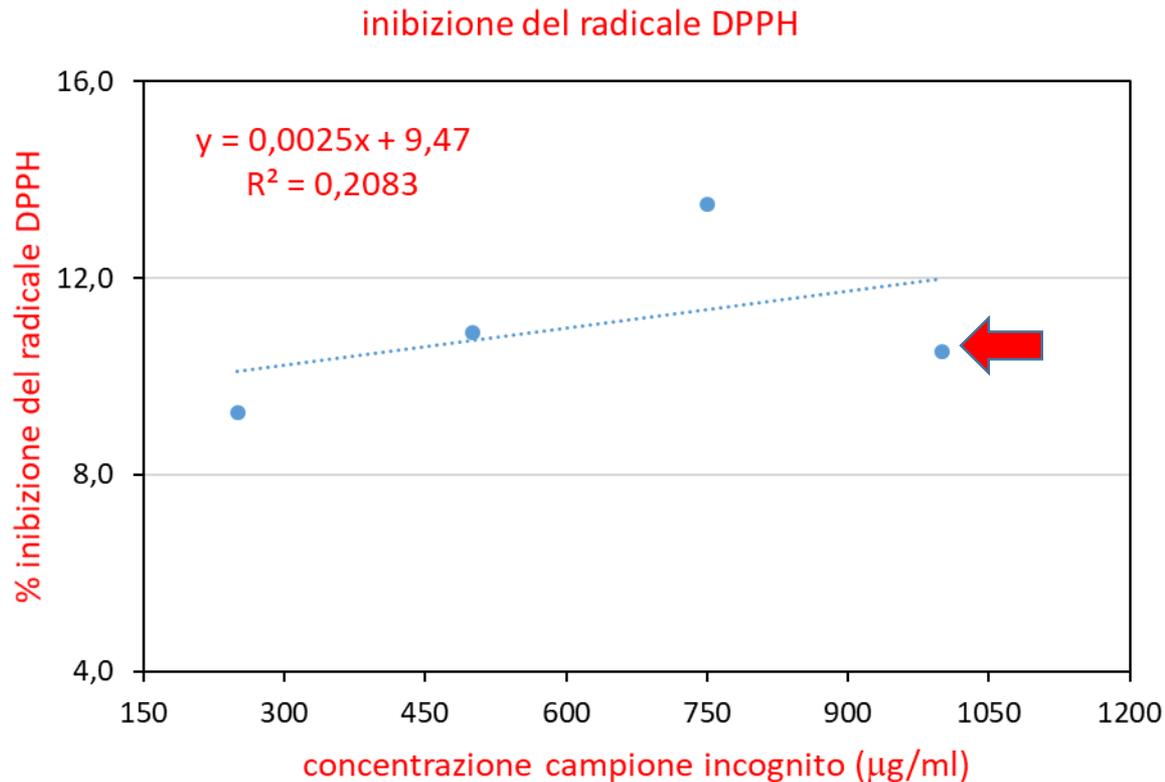
- A_0 è l'assorbanza del radicale DPPH e A_s è l'assorbanza dopo l'aggiunta del campione o dello standard.

METODOLOGIE PER IL DOSAGGIO DI SOSTANZE ANTIOSSIDANTI

Metodo del radicale stabile DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)

Messa a punto dell'esperimento:

3. Elaborazione dei dati sperimentali



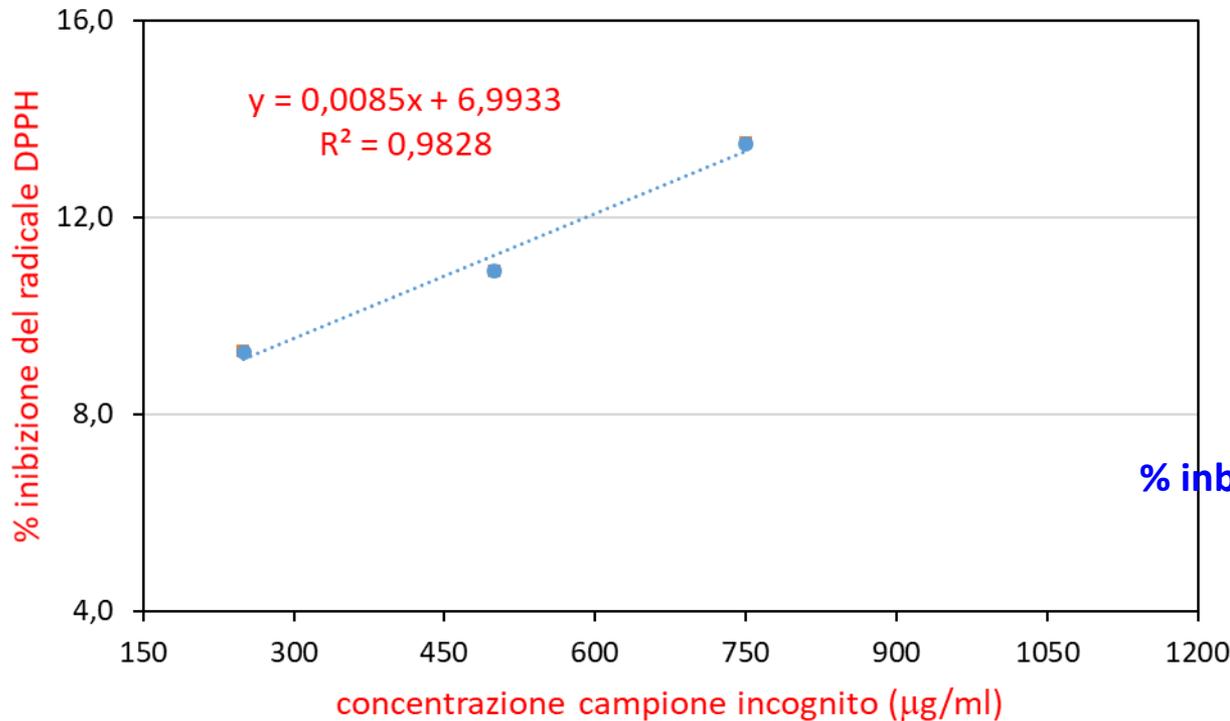
METODOLOGIE PER IL DOSAGGIO DI SOSTANZE ANTIOSSIDANTI

Metodo del radicale stabile DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)

Messa a punto dell'esperimento:

3. Elaborazione dei dati sperimentali

inibizione del radicale DPPH



$$y = 0,0085x + 6,9933$$

% inibizione = 50

[X] $\mu\text{g/ml}$

Vogliamo identificare la concentrazione in grado di inibire per il 50% il radicale DPPH

METODOLOGIE PER IL DOSAGGIO DI SOSTANZE ANTIOSSIDANTI

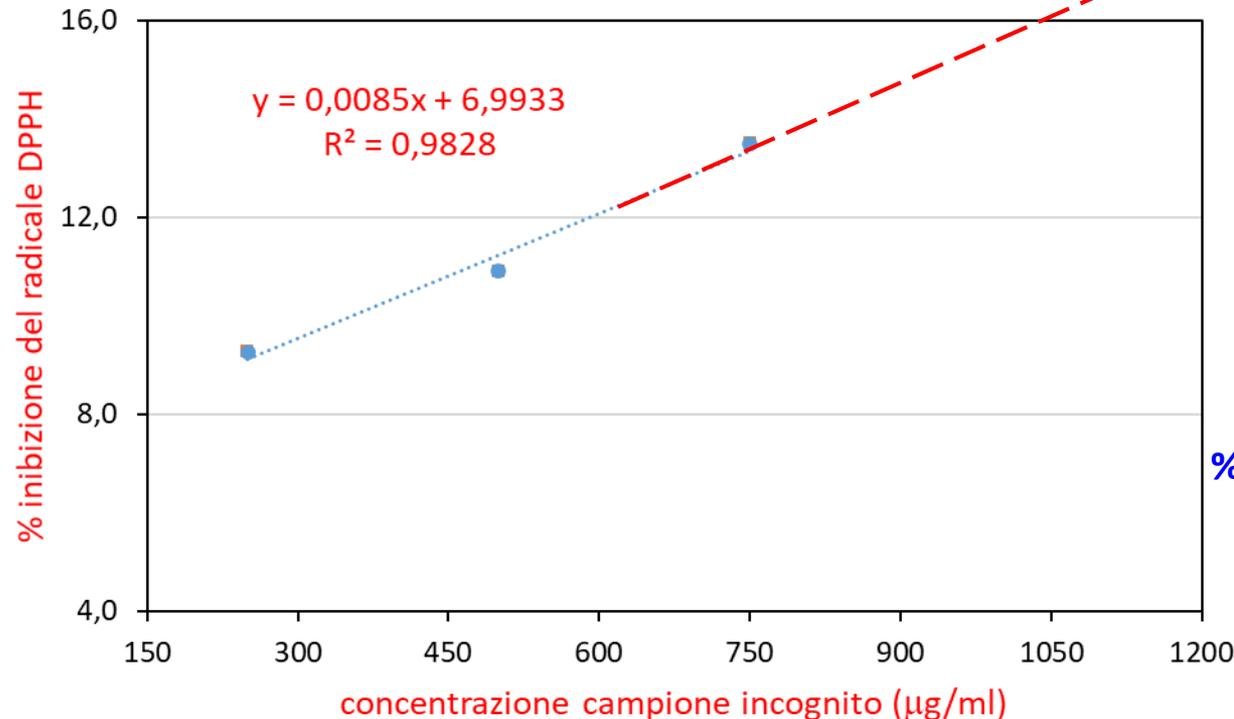
Metodo del radicale stabile DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)

Messa a punto dell'esperimento:

3. Elaborazione dei dati sperimentali



inibizione del radicale DPPH



$$y = 0,0085x + 6,9933$$

% inibizione = 50

[X] µg/ml

Vogliamo identificare la concentrazione in grado di inibire per il 50% il radicale DPPH



METODOLOGIE PER IL DOSAGGIO DI SOSTANZE ANTIOSSIDANTI

Metodo del radicale stabile DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)

Messa a punto dell'esperimento: **è necessario cambiare le concentrazioni da saggiare**

3. Elaborazione dei dati sperimentali

Concentrazione	A @ 519nm				$A_s/A_0 \times 100$	% inibizione
	Valore 1	Valore 2	MEDIA	DV STD		
CONTROLLO (A_0)	0,658	0,655	0,656	0,012	100,0	
Campione (A_s)	Valore 1	Valore 2	MEDIA	DV STD		
4500 $\mu\text{g/ml}$	0,795	0,795	0,795	0,024	16,000	84,000
3500 $\mu\text{g/ml}$	1,016	1,008	1,013	0,006	32,500	67,500
2500 $\mu\text{g/ml}$	1,244	1,230	1,238	0,009	44,410	55,590
1500 $\mu\text{g/ml}$	1,443	1,476	1,460	0,024	53,650	46,350

- A_0 è l'assorbanza del radicale DPPH e A_s è l'assorbanza dopo l'aggiunta del campione o dello standard.

METODOLOGIE PER IL DOSAGGIO DI SOSTANZE ANTIOSSIDANTI

Metodo del radicale stabile DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)

Messa a punto dell'esperimento:

3. Elaborazione dei dati sperimentali

inibizione del radicale DPPH

