

ANÁLISES QUÍMICAS

ABTS em Frutas



Espectrofotometro + Cubeta de Acrílico
Vortex (Agitador de Tubos)



Solução de ABTS (7.0 mM)

ABTS = 2,29-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6- sulfonic acid) diammonium salt

Cada amostra requer 1,0 mL de solução

Para 20 mL de solução → 0.077 g de ABTS

0.013 g de Persulfato de Potássio

Para 50 mL de solução → 0.192 g de ABTS

0.033 g de Persulfato de Potássio

Deixar descansar por pelo menos 12 h no escuro.

Após o descanso, diluir com etanol até que a absorbância da solução seja igual a 0.70

Solução de Trolox em etanol

Trolox = 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid

Utilizado para fazer a curva de calibração

Para 100 mL de solução → 0,004 g de Trolox



Preparação

Pesar 5 g de Fruta *in Natura*

ou o equivalente em fruta seca de 5 g da fruta *in natura*

Macerar ou cortar a fruta em pedaços bem pequenos

Colocar a amostra em becker pequeno

Adicionar 10 mL de Etanol 96%

Homogeneizar usando um Turrax até formar uma pasta ou suco

Filtrar a amostra

Transferir para tubo de ensaio





Leitura

Ler absorbância em espectrofotômetro usando cubeta de acrílico
Branco = Etanol
Amostra = Fase sobrenadante (filtrado)

Para cada leitura use um tubo de ensaio
Adicionar 0,010 mL de amostra (ou água para o branco)
Adicionar 1,000 mL de solução de trabalho

Esperar por 6 min para reação e desenvolvimento de cor

Leitura a 734 nm



Cálculo

Utilizar a curva de calibração para calcular a capacidade antioxidante expressa em equivalente em Trolox (TEAC).



Observações

Leituras entre 0,200 a 0,600 são desejáveis

Caso a leitura da absorbância der acima de 0,600 então:

Pode ser necessário aumentar a quantidade de amostra inicial – o ideal é fazer testes iniciais com 2 g, 5 g e 10 g de amostra e verificar a melhor opção para a quantidade de amostra a ser utilizada.



Curva de Calibração

Fazer curva com pelo menos 5 pontos.

Ler absorbância em espectrofotômetro usando cubeta de acrílico

Para cada leitura use um tubo de ensaio
Adicionar x mL de solução de Trolox
Adicionar y mL de etanol

Em que: $x = 0,020; 0,040; 0,060; 0,080$ e $0,100$ mL
 $y = 0,900; 0,900; 0,900; 0,900$ e $0,900$ mL

Na cubeta de leitura
Adicionar 0,010 mL de solução do Trolox diluído
Adicionar 1,000 mL de solução de trabalho



Obs: estes valores proverão uma curva para fenólicos totais entre 3 a 15 $\mu\text{mol/L}$ equivalente em Trolox (TEAC)

Esperar por 6 min para reação e desenvolvimento de cor

Leitura a 734 nm

Fazer gráfico Abs x Conc.Trolox



Referência

(Re et al., 1999)

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine*, 26, 1231–1237.

