

DÉTERMINATION DE L'ACTIVITÉ ANTIRADICALAIRE (DPPH ASSAY)

Ilaria Marchioni
Laura Pistelli

Dipartimento Scienze
Agrarie, alimentari e
agro-ambientali
Università di Pisa
Via del Borghetto 80,
56124 PISA

Extraction

1. prendre le matériel végétal (frais $\geq 0,1$ g ; séché $\geq 0,02$ g)
2. L'homogénéiser dans un mortier avec un pilon et
3. Rajouter x ml (p/V, g/ml; 1/10-20) de méthanol à 70% froid.
4. Garder dans la glace pendant 30 minutes, en remuant légèrement
5. Centrifuger à 14000 rpm pendant 10 minutes à température ambiante
6. Récupérer le surnageant pour analyses

Détermination

1. Récupérer plusieurs fractions de surnageant de l'échantillon ($x=1-100$ μ l)
2. Rajouter du méthanol à 70% ; (750 μ l- x)
3. Rajouter 250 μ l de solution 1 mM DPPH
4. Incuber à l'abri de la lumière, à température ambiante pendant 30 minutes.
5. Transférer le mélange dans une cuve
6. Mesurer l'absorbance au spectrophotomètre (517 nm)
7. Utiliser une solution de Trolox (1:1 mg/ml) ou bien de l'acide ascorbique (1:1 mg/ml) pour la courbe d'étalonnage

L'équation suivante est utilisée pour mesurer l'activité antiradicalaire par rapport au DPPH :

$$\text{Effet scavenging du DPPH (\%)} = \left[\frac{\text{Abs}_{\text{DPPH}} \times \text{Abs}_{\text{échantillon}}}{\text{Abs}_{\text{DPPH}} \times 100} \right]$$

Le pourcentage de DPPH restant est ainsi calculé :

$$\text{DPPH restant (\%)} = \left[\frac{\text{Abs}_{\text{DPPH}}}{\text{Abs}_{\text{échantillon}}} \times 100 \right]$$

Les résultats ont été exprimés en IC_{50} (mg/mL), c'est-à-dire la concentration d'extrait nécessaire pour obtenir 50% de l'activité antiradicalaire.

Bibliographie

Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset CLWT (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT-Food science and Technology, 28(1), 25-30