

Numer pary	Imię i nazwisko	Wydział
		Rok
		grupa
data	Nazwisko prowadzącego	Uwagi Zaliczenie

Z4. Wyznaczanie aktywności przeciwutleniającej płynów metodą spektroskopową

Zagadnienia

Prawo Lamberta-Beera. Schemat poziomów energetycznych Jabłońskiego. Stan podstawowy i stany wzbudzone. Zjawisko absorpcji. Rodzaje przejść między poziomami energetycznymi. Widma emisji i absorpcji.

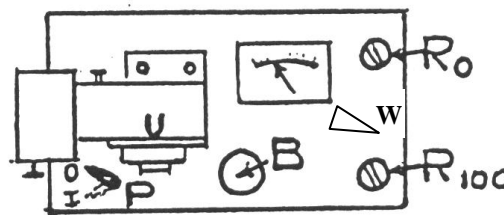
Literatura

Jaroszyk - rozdz. 12.3.2.; 23.3; 23.4; Biofizyka dla Biologów rozdz. 3.1 - 3.3.; symulacje: build an atom.jar, build a molecule.jar

Przyrządy: spektrofotometr Spekol, kuweta do absorpcji

Przebieg pomiarów:

1. Przed włączeniem przyrządu:
 - przełącznik **P** ustaw w pozycji "0"
2. Napełnij kuwetę roztworem *DPPH* a następnie wstaw kuwetę do uchwyty, drugą kuwetę (referencyjną) z wodą wstaw do drugiego uchwyty
3. Przesuń uchwyt tak, aby kuweta referencyjna znalazła się w obudowie fotokomórki.
4. Pod kontrolą osoby prowadzącej włączyć zasilacz i odczekaj około 10 min. w celu ustabilizowania pracy źródła światła.
5. Ustaw na bębnie **B** długość fali światła padającej na próbkę $\lambda = 517 \text{ nm}$
6. Obracając potencjometrem **R₀** sprowadź wychylenie wskazówki na wartość 0 % T, dolna skala. Następnie ustaw przełącznik **P** w pozycji "1" i przełącznikiem **R100** sprowadź wskazówkę do wartości 100%.
7. Przesuń uchwyt, aby kuweta pomiarowa znalazła się w obudowie fotokomórki. Przełącznik **P** SPEKOLA ustaw w pozycji "1" i odczytaj wartość absorpcji z górnej skali przyrządu, i wynik wpisz do Tabeli 1.



Przygotowanie próbek

Przygotowanie próbki referencyjnej.

Dodaj do zlewki $4,5 \text{ cm}^3$ wody oraz $0,5 \text{ cm}^3$ roztworu DPPH. Po wymieszaniu pobierz 2 cm^3 roztworu i przelej go do kuwety. Zmierz jego absorbcję i zapisz jako wartość A_0 w Tabeli 1. Wartość absorpcji powinna być w zakresie 0,8 do 0,9.

Przygotowanie próbki standardu – kwasu galusowego. Do zlewki dodaj $4,5 \text{ cm}^3$ 10 mM kwasu galusowego. Następnie dodaj $0,5 \text{ cm}^3$ roztworu DPPH i w tym samym momencie uruchom stoper. Pobierz 2 cm^3 roztworu do kuwety pomiarowej i zmierz jego absorbcję i zapisz w Tabeli 1 jako A_1 . Po 10 min zmierz absorpcję roztworu pozostałego w zlewce, i jej wartość A_2 wpisz do Tabeli 1. Powyższą procedurę powtórz trzykrotnie.

Przygotowanie próbki badanego napoju. Do zlewki dodaj $4,5 \text{ cm}^3$ badanego napoju a następnie dodaj $0,5 \text{ cm}^3$ roztworu DPPH, i w tym samym momencie uruchom stoper. Pobierz 2 cm^3 roztworu do kuwety pomiarowej i zmierz jego absorbcję i zapisz w Tabeli 1 jako A_1 . Po 10 min. zmierz absorpcję A_2 roztworu pozostałego w zlewce, i jej wartość wpisz do Tabeli 1. Powyższą procedurę powtórz trzykrotnie.

Jeżeli badana próbka jest barwna to do 4.5 cm³ próbki dodaj 0,5 cm³ wody i zmierz absorpcję a utrzymaną wartość odejmij od absorpcji A₂.

Opracowanie wyników

Aktywność przeciwutleniającą APU oblicz ze wzoru

$$APU = (1 - \frac{A_0 - A_2}{A_0})$$

A₀ - absorpcja roztworu DPPH w wodzie; A₂ - absorpcja badanego roztworu po 10 minutach od zmieszania z DPPH

Tabela 1. Pomiary absorpcji kwasu galusowego oraz badanego napoju

Kwas galusowy				
	A ₀	A ₂	A ₀ -A ₂	APU
Pomiar 1				
Pomiar 1				
Pomiar 1				
			Średnia	

SD_{KG} =

ΔAPU_{KG} =

Badany napój				
	A ₀	A ₂	A ₀ -A ₂	APU
Pomiar 1				
Pomiar 1				
Pomiar 1				
			Średnia	

SD_{sok} =

ΔAPU_{sok} =

Oblicz wartość APU dla badanego napoju oraz standardu.

Korzystając z programu komputerowego, Excel lub Statsys, oblicz błąd pomiarowy dla próbki referencyjnej oraz kwasu galusowego korzystając z odchylenia standardowego SD, na podstawie zależności ΔAPU= 3xSD.

Zestawienie wyników

Kwas galusowy APU =

Badany napój APU =