**TD : Activité antioxydante par la méthode de décoloration du β-carotène**

**(**Sun et Ho, 2005 dans Ozsoy et al. 2008)

**Principe de la méthode :**

* Consiste à mesurer (470 nm), la décoloration du β-carotène résultant de son oxydation par les produits de décomposition de l'acide linoléique.
* La dispersion de l'acide linoléique et du β-carotène dans la phase aqueuse est assurée par du Tween (solvant).
* L'oxydation de l'acide linoléique est catalysée par la chaleur *(50* °C) de manière non spécifique.
* L'addition d'antioxydants purs ou sous forme d'extraits végétaux induit un retard de la cinétique de décoloration du β-carotène. Cette méthode est sensible, rapide et simple que se mésure par la spectrophotométrie dans le visible.

**Protocole expérimental**

* Emulsion du β-carotène: 2 mg dissous dans 10 ml de chloroforme, puis 1 ml de cette solution est mélangé avec 0.06 g d'acide linoléique purifié et 0.2 g du Tween 40,
* Le chloroforme est ensuite éliminé par évaporation en utilisant un rotavapor et le résidu obtenu est récupéré par 50 ml de peroxyde d'hydrogène à 30%.
* *5* ml de cette émulsion sont préparés, pour lesquelles 200 µLde nos extraits méthanoliques étudiées ou d'antioxydant de référence (BHA) à la concentration de *2,5* mg/ml sont ajoutés.
* Le mélange est bien vortéxé et la lecture de l'absorbance se fait immédiatement à t0 contre un blanc (contient l'émulsion sans le β-carotène) à 470 nm.
* Les tubes couverts sont placés dans un bain marie à *50°C* et la lecture de l'absorbance est faite toutes les 10 minutes durant 60 minutes.
* Un contrôle négatif est réalisé en parallèle: *5* ml de l'émulsion du β-carotène et 200 µl de méthanol.