

DETERMINAZIONE ATTIVITÀ ANTIRADICALICA (DPPH ASSAY)

Ilaria Marchioni
Laura Pistelli

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

Estrazione

1. *prelevare materiale vegetale (fresco $\geq 0,1$ g; secco $\geq 0,02$ g)*
2. *omogenizzarlo in mortaio e con l'aiuto di pestello e*
3. *aggiungere x ml (p/V, g/ml; 1/10-20) di metanolo 70% freddo.*
4. *Mantenere in ghiaccio per 30 minuti, con leggera agitazione*
5. *Centrifugare a 14000 rpm per 10 minuti a temperatura ambiente*
6. *Prelevare il supernatante utilizzato per le successive analisi*

Determinazione

1. *Prelevare diverse aliquote di campione, (x=1-100 μ l)*
2. *Aggiungere metanolo a 70%; (750 μ l- x)*
3. *Aggiungere 250 μ l di soluzione 1 mM DPPH*
4. *Incubare al buio a temperatura ambiente per 30 minuti.*
5. *Trasferire la miscela in cuvetta*
6. *Leggere l'assorbanza allo spettrofotometro (517 nm)*
7. *Utilizzare una soluzione di Trolox (1:1 mg/ml) oppure acido ascorbico (1:1 mg/ml) per la retta di taratura*

Si utilizza la seguente equazione per ricavare l'attività antiradicalica nei confronti del DPPH:

$$\text{Effetto scavenging del DPPH (\%)} = [\text{Abs}_{\text{DPPH}} \times \text{Abs}_{\text{campione}} / \text{Abs}_{\text{DPPH}} \times 100]$$

Di conseguenza la percentuale di DPPH rimanente è stata calcolata:

$$\text{DPPH rimanente (\%)} = [(\text{Abs}_{\text{DPPH}} / \text{Abs}_{\text{campione}}) \times 100]$$

I risultati sono stati riportati come IC₅₀ (mg/mL), cioè la concentrazione di estratto richiesta per ottenere il 50% dell'attività antiradicalica.

Referenze Bibliografiche

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