

Ilaria Marchioni  
Laura Pistelli

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

## DETERMINAZIONE POLIFENOLI TOTALI

### **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 ice per 30'*
5. *Centrifugare a 14000 rpm per 10 minuti a temperatura ambiente*
6. *Prelevare il supernatante utilizzato per le successive analisi*

### **Determinazione**

7. *Prelevare un'aliquota di supernatante ( $X = 5-50 \mu\text{l}$ ) di sample*
8. *Aggiungere  $\text{H}_2\text{O}$  ( $50 \mu\text{l} - x$ )*
9. *Aggiungere 500  $\mu\text{l}$  di Folin-Ciocalteu*
10. *Incubare 5 min al buio*
11. *Incubare 2 h a 25 °C al buio, oppure 30 min 42°C*
12. *Trasferire la miscela in una cuvetta e leggere l'assorbanza a 765 nm*
13. *Utilizzare una soluzione di acido gallico (1:1 mg/ml) per la retta di taratura*

### **Referenze Bibliografiche**

Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. American journal of Enology and Viticulture, 16(3), 144-158.