

Ilaria Marchioni
Laura Pistelli

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

DETERMINAZIONE DI ANTOCIANI

Estrazione

1. Preparare soluzione (M)EtOH/ HCl (v:v; 10:0,1)
2. Prelevare materiale vegetale (fresco $\geq 0,1$ g; essiccato $\geq 0,02$ g)
3. Mettere in un mortaio congelato
4. omogenizzarlo con la soluzione (M)EtOH/ HCl (0,5 ml).
5. Travasare l'estratto in opportuna provetta
6. (Incubare overnight a 4°C) facoltativo
7. Aggiungere 0,250 ml di H₂O distillata
8. miscelare
9. Aggiungere 0,750 ml di cloroformio
10. Miscelare
11. Centrifugare a 14000 rpm (max speed) per 5 minuti a T ambiente
12. Prelevare il surnatante facendo attenzione a non prelevare anche la frazione di cloroformio

Determinazione

13. Preparare una soluzione standard antocianina standard (cyanidine-chloride 1mg/1ml EtOH) da utilizzare per la retta di taratura
14. Diluire opportunamente i campioni vegetali in soluzione (M)EtOH/HCl
15. Leggere allo spettrofotometro VIS l'assorbanza a 535 nm (eventualmente anche a 657 per controllare la presenza di clorofille)

Referenze Bibliografiche

NomeCheng GW, Breen PJ (1991) Activity of phenylalanine ammonia-lyase (PAL) and concentrations of anthocyanins and phenolics in developing strawberry fruit. J Am Soc Hort Sci 116:865-869