

Ilaria Marchioni
Laura Pistelli

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

DÉTERMINATION D'ANTHOCYANS

Extraction

1. Préparer la solution (M)EtOH/ HCl (v:v ; 10:0,1)
2. Prendre le matériel végétal (frais $\geq 0,1$ g ; séché $\geq 0,02$ g)
3. Mettre dans un mortier préalablement passé au congélateur
4. Homogénéiser avec la solution (M)EtOH/ HCl (0,5 ml).
5. Transférer l'extrait dans une pipette adaptée
6. (Incuber pendant la nuit à 4 °C) facultatif
7. Rajouter 0,250 ml d'eau déminéralisée
8. Mélanger
9. Rajouter 0,750 ml de chloroforme
10. Mélanger
11. Centrifuger à 14000 rpm (vitesse maximale) pendant 5 minutes à T ambiante
12. Récupérer le surnageant en évitant de prendre aussi le chloroforme

Détermination

13. Préparer une solution normale d'anthocyanes (cyanidine-chlorure 1mg/1ml EtOH) qui sera utilisée pour la courbe d'étalonnage
14. Diluer les échantillons végétaux dans la solution (M)EtOH/HCl
15. Mesurer l'absorbance à 535 nm avec le spectrophotomètre VIS (si besoin à 657 également pour constater la présence éventuelle de chlorophylle)

Bibliographie

Cheng 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