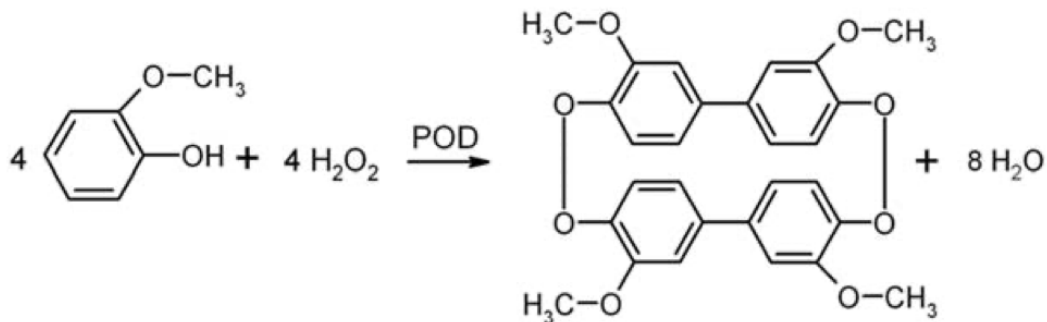


## Attività POD su campioni di carote sottoposte a blanching

Metodo modificato da Morales-Blancas, 2002, Journal of Food Science, 67 (1), 146-154

Reazione enzimatica alla base del saggio:



**SCH 1**

*Enzymatic conversion of guaiacol to tetraguaiacol in the presence of hydrogen peroxide.*

### Preparazione estratto enzimatico

Procedura di estrazione

1. Pesare in becker 12 g di campione (*Daucus carota*)
2. Aggiungere 25 mL di tampone fosfato di potassio 0.1 M, pH 6.5
3. Omogeneizzare per 1' con Ultraturrax, o fino a ottenere una purea omogenea
4. Filtrare su carta filtro; raccogliere il filtrato in Falcon da 15 mL
5. Centrifugare a 5000rpm, 4°C, per 15'
6. Trasferire 1 mL in eppendorf
7. Centrifugare a 13000rpm per 5'

### Preparazione soluzione POD per analisi enzimatica

In matraccio da 100mL aggiungere:

1. 0.1 mL Guaiacolo (al 99.5%)
2. 0.1 mL H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (al 30%)
3. Portare a volume con tampone

### Analisi della cinetica enzimatica, $\lambda=470\text{nm}$ , tempo 6'

In cuvetta:

1. Mettere 3480 $\mu\text{L}$  di soluzione POD
2. (Azzerare lo spettrofotometro)
3. Aggiungere 120  $\mu\text{L}$  di estratto enzimatico
4. Tappare la cuvetta con parafilm e passare al vortex per 3''
5. Seguire la variazione di Abs nel tempo (6', a 470nm)

### **Elaborazione della % di inibizione**

1. Riporta in grafico i valori di Abs nel tempo
2. Nel tratto lineare calcola la pendenza della retta  $\Delta\text{Abs}/\text{min}$  del campione controllo e del campione trattato
3. Calcola la % di inibizione