

DETERMINAZIONE ASSOLUTA DELL'IDROSSITIROSOLO LIBERO E TOTALE IN OLIO EXTRAVERGINE DI OLIVA IN ACCORDO ALLA DIRETTIVA CE 432/2012

Lucia Bartella, Domenico Taverna, Fabio Mazzotti, Anna Napoli, Giovanni Sindona and Leonardo Di Donna

Department of Chemistry and Chemical Technologies CTC, Università della Calabria, Arcavacata di Rende, Cs, ITALY.
lucia.bartella@unical.it

INTRODUZIONE

L'idrossitirosole (Htyr) è uno dei principali composti fenolici presenti nell'olio extravergine di oliva (EVOO), al quale vengono attribuite diverse proprietà benefiche. È considerato infatti un forte antiossidante, antiinfiammatorio, antitrombotico, e responsabile della conservazione dell'olio.

Nel 2011 l'unità NDA dell'Autorità Europea per la Sicurezza Alimentare (EFSA) ha espresso un parere scientifico a riguardo degli effetti benefici apportati dai polifenoli dell'olio d'oliva, i quali potrebbero contribuire alla protezione dei lipidi ematici dallo stress ossidativo. Il claim salutistico scaturito e codificato nella direttiva 432/2012 afferma che "I polifenoli dell'olio di oliva contribuiscono alla protezione dei lipidi ematici dallo stress ossidativo", e può essere utilizzato solo per un olio d'oliva contenente almeno 5 mg di idrossitirosole e derivati (e.g. oleuropeina e tirosolo) per 20 g di olio [1].

Il lavoro ha previsto lo sviluppo di un metodo rapido e accurato per la quantificazione dell'idrossitirosole libero e totale nell'olio. Le analisi sono state eseguite mediante *paper spray mass spectrometry*, in modalità MRM e facendo uso del metodo della diluizione isotopica (ID PS-MS/MS).

METODO

Il metodo è stato validato su cinque diversi campioni.

Preparazione del Campione

Htyr libero

- Aggiunta dello standard interno (d_2 -Htyr)
- Omogeneizzazione
- Spotting manuale del campione sul triangolo di carta
- Analisi PS – MS/MS (Fig.1).

Htyr legato

- Aggiunta dello standard interno (d_2 -Htyr)
- Omogeneizzazione
- Estrazione di 1g di olio con EtOH/HCOOH 0.5%
- Idrolisi acida dell'estratto
- Spotting manuale della soluzione sul triangolo di carta
- Analisi PS – MS/MS (Fig.1).

Condizioni MS

Needle potential - 5 kV
Shield potential - 400 V
Capillary - 100 V
Detector 1400 V

L'analisi MRM è stata condotta monitorando due transizioni, scelte sulla base dello spettro MS/MS dell'analita e dello standard interno [2,3] (Fig.2):

d_0 -Htyr 153 → 123 (CE 22 V);
 d_2 -Htyr 155 → 123 (CE 22 V) (Fig.3).

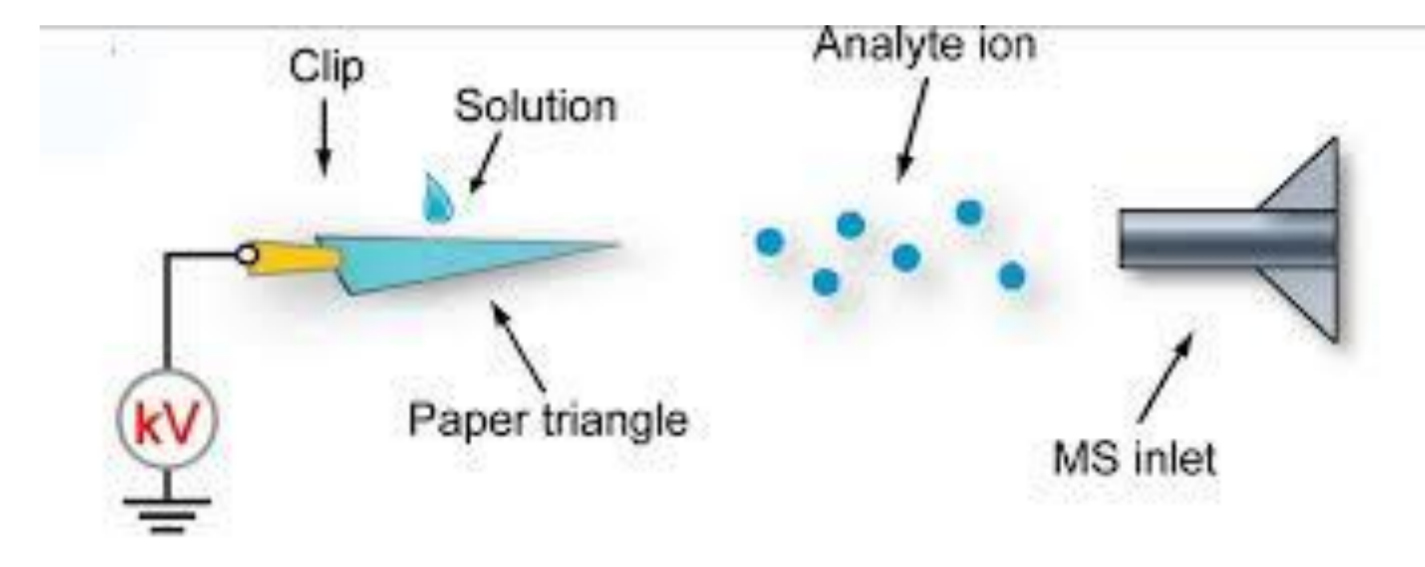


Fig.1 Esperimento PS-MS

RISULTATI

Fig.2 Spettro ESI (-) MS/MS dell'analita Htyr (A) e dello standard interno d_2 -Htyr (B), e meccanismo di frammentazione dell'idrossitirosole

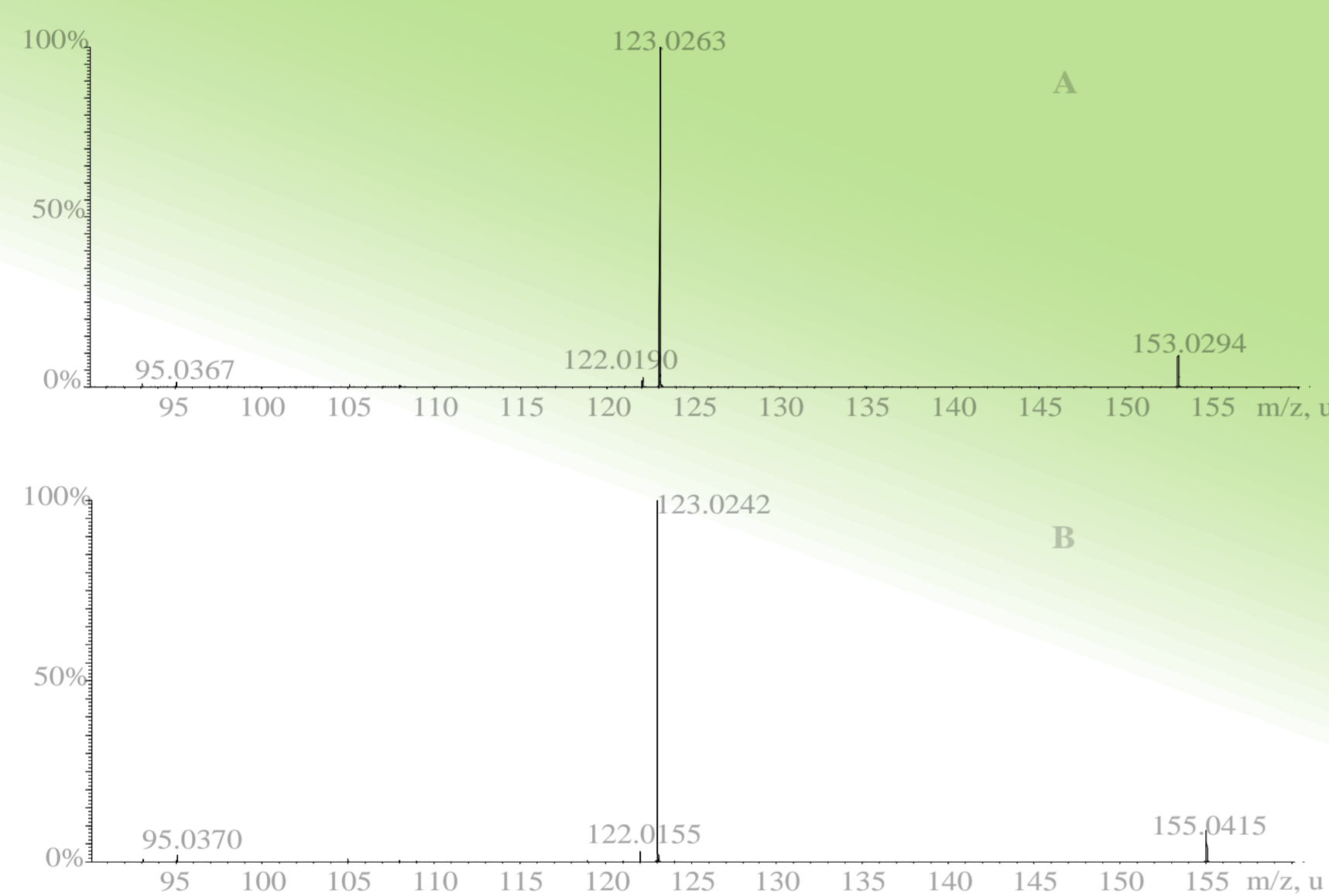


Fig.3 Corrente ionica totale delle transizioni monitorate in un generico campione. In rosso la corrente ionica relativa alla transizione dell'analita Htyr ed in verde dello standard interno d_2 -Htyr



Htyr libero

Linearità ($y = 0.8047x + 0.1742$ $R^2=0.988$).

Tabella 1 Quantità di Htyr nei campioni di olio

Virgin olive oil	Htyr (ppm)	RSD%
Olio 1	2.81 ± 0.07	2.40
Olio 2	5.84 ± 0.13	2.20
Olio 3	6.35 ± 0.18	2.76
Olio 4	2.45 ± 0.11	4.63
Olio 5	NA	

Tabella 2 Valori di accuratezza

ppm	Concentrazione e calcolata (ppm)	Accuracy %	RSD%
4	3.72 ± 0.22	93.00	6.14
16	16.42 ± 0.78	102.63	4.73

Tabella 3 valori di LOQ and LOD

	ppm
LOQ	0.81
LOD	0.04

Htyr legato

Linearità ($y = 1.0493x + 0.0121$ $R^2=0.997$)

Tabella 1 Quantità di Htyr nei campioni di olio

Virgin olive oil	Htyr (ppm)	RSD%
Olio 1	77.78 ± 1.95	2.52
Olio 2	28.55 ± 1.94	6.80
Olio 3	38.08 ± 0.88	2.33
Olio 4	19.26 ± 1.68	8.72
Olio 5	5.04 ± 0.64	12.70

Tabella 2 Valori di accuratezza

ppm	Concentrazione e calcolata (ppm)	Accuracy %	RSD%
2.5	2.52 ± 0.01	100.61	0.48
15	14.83 ± 0.08	98.93	0.56

Tabella 3 valori di LOQ and LOD

	ppm
LOQ	4.63
LOD	3.51

CONCLUSIONI

La quantità di idrossitirosole presente nei campioni di olio è stata confermata mediante analisi LC-UV e LC-MS/MS.

Il metodo sviluppato prevede una semplice preparazione del campione, tempi di analisi brevi ed elevata specificità, per questo motivo potrebbe essere utilizzato come protocollo analitico per la determinazione assoluta del composto.

Bibliografia

- [1] REGOLAMENTO (UE) N. 432/2012 DELLA COMMISSIONE del 16 maggio 2012. *Gazzetta ufficiale dell'Unione europea*. 25.5.2012, L 136.
- [2] F. Mazzotti, L. Di Donna, D. Taverna, M. Nardi, D. Aiello, A. Napoli, G. Sindona, *International Journal of Mass Spectrometry* 352, pp 87-91 (2013)
- [3] F. Mazzotti, H. Benabdelkamel, L. Di Donna, M. Nardi, L. Maiuolo, A. Napoli, G. Sindona, *Food Chemistry* 135, pp 1006-1010 (2012)