

La definizione di marker analitici dell'origine geografica degli oli vergini di oliva basati sui costituenti minori con particolare riferimento alle sostanze volatili

¹Fiorenza M., ¹Pantaleone V., ¹Servili M., ¹Urbani S., ¹Esposito S., ¹Selvaggini R., ²Savino A.F., ³Carpino S.

¹Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari e Ambientali, Università degli Studi di Perugia, Perugia, Italia;
²Laboratorio di Perugia, ICQRF-MIPAAF, Perugia, Italia; ³Ufficio PREF IV, ICQRF-MIPAAF, Roma, Italia
e-mail: marco.fiorenza@unipg.it

SCOPO: Il controllo analitico dell'autenticità dell'origine geografica dichiarata sull'etichetta dei prodotti alimentari è una delle sfide più importanti cui un organismo di controllo è chiamato a rispondere. Questa sperimentazione, effettuata da ICQRF in collaborazione con l'Università degli Studi di Perugia, intende giungere ad un'autenticazione dell'origine degli oli extra vergine di oliva (OEVO) basata sull'analisi dei composti volatili dello spazio di testa.

Sono stati messi a confronto i risultati ottenuti con due differenti strumentazioni, **HS-SPME-GC-MS** e **HS-GC-IMS**, e pertanto con due differenti approcci, **targeted** e **untargeted**.

INTRODUZIONE: L'OEVO è uno dei prodotti alimentari la cui origine influenza le caratteristiche organolettiche del prodotto finito, così come il livello di apprezzamento, la qualità percepita e le scelte di acquisto dei consumatori. Pertanto, la legislazione italiana (DM n. 8077 del 10 novembre 2009) e la legislazione comunitaria (Reg. UE n. 29/2012 e Reg. UE n. 1151/2012) prescrivono l'indicazione dell'origine, sia per gli OEVO convenzionali sia per quelli soggetti a specifici schemi comunitari di qualità, basata su forme di rintracciabilità documentale ai sensi del Reg. (CE) n. 178/2002.

Tuttavia, questa tipologia di rintracciabilità è limitante ed eccessivamente condizionata dal livello di accuratezza e dall'etica di chi la attua. Pertanto, è auspicabile attuare forme di rintracciabilità analitica in grado di supportare il dettato normativo.

L'obiettivo di questa sperimentazione è autenticare l'origine geografica degli OEVO attraverso l'analisi dei composti volatili. Infatti, il profilo delle molecole responsabili dell'aroma degli OEVO è influenzato, anche, dal suolo e dalle condizioni climatiche del luogo di coltivazione, e pertanto questi fattori, ed i composti ad essi correlati, possono essere utilizzati come *marker* in grado di discriminare gli OEVO in funzione delle loro diverse origini geografiche (Cajka *et al.*, 2010; Pizarro *et al.*, 2011; Cecchi *et al.*, 2020).

MATERIALI E METODI: Le attività di ricerca sono state condotte su **77 campioni** di OEVO appartenenti alla campagna di molitura **2020/2021** e così suddivisi: Italia 67 (Puglia 14, Calabria 14, Lazio 13, Liguria 7, Sicilia 5, Umbria 5, Marche 1, Toscana 1, altri 7); Spagna 6; Grecia 2; Portogallo 1; Sud America 1.

L'analisi dei composti volatili è stata realizzata utilizzando due tecniche in comparazione: **HS-GC-IMS** e **HS-SPME-GC-MS**.

Il metodo utilizzato per l'analisi **HS-GC-IMS** è quello messo a punto dall'Alma Mater Studiorum Università di Bologna (Valli *et al.*, 2020), mediante lo strumento **Flavourspec®**. L'elaborazione statistica dei dati raccolti è stata condotta utilizzando il software dedicato **VOCal**, che ha permesso di costruire differenti PCA dove sono stati presi in considerazione tutti i diversi punti di ciascuno dei cromatogrammi 3D relativi ai campioni oggetto di analisi, secondo un approccio **totalmente untargeted**.

Il profilo **HS-SPME-GC-MS targeted** dei composti volatili è stato ottenuto mediante il metodo messo a punto dall'Università degli Studi di Perugia (Taticchi *et al.*, 2021), utilizzando un GC **Agilent Technologies 7890B** accoppiato a un GC/MSD a singolo quadrupolo **Agilent 5977B**. Con questo metodo sono stati valutati 44 composti (via della lipossigenasi, idrocarburi e terpeni).

L'elaborazione dei dati raccolti e la costruzione delle diverse PCA è stata realizzata usando il pacchetto chemiometrico **"SIMCA 13.0.3.0"**.

RISULTATI E DISCUSSIONE: I dati raccolti su tutti i 77 campioni mediante il **Flavourspec®** sono stati utilizzati per costruire un **modello PCA degli OEVO italiani vs stranieri** (figura 1). Il modello spiega il 56% della varianza totale con due componenti principali (il 42% e il 14%, rispettivamente). Dallo *score plot* si nota che gli **OEVO italiani** si separano soprattutto dagli **oli spagnoli**, che formano un *cluster* a sé stante.

Allo stesso modo, è stata realizzata una **PCA OEVO italiani vs stranieri** con i dati ottenuti tramite **HS-SPME-GC-MS** (figura 2). Il modello spiega il 72% della varianza totale con otto componenti principali (rispettivamente il 19%, il 16%, il 10%, il 9%, il 6%, il 4%, il 4% e il 4%). Lo *score plot* mette in evidenza una **buona discriminazione degli OEVO italiani rispetto agli altri**. Le variabili responsabili di questa separazione (*loading plot* non mostrato) sono alcuni idrocarburi, aldeidi e alcoli a C₅, caratterizzanti gli OEVO italiani a sinistra della prima componente; questi ultimi si differenziano dagli OEVO stranieri sulla seconda componente per i contenuti più elevati di alcuni terpeni, alcuni alcoli a C₅ e (E)-2-esenale.

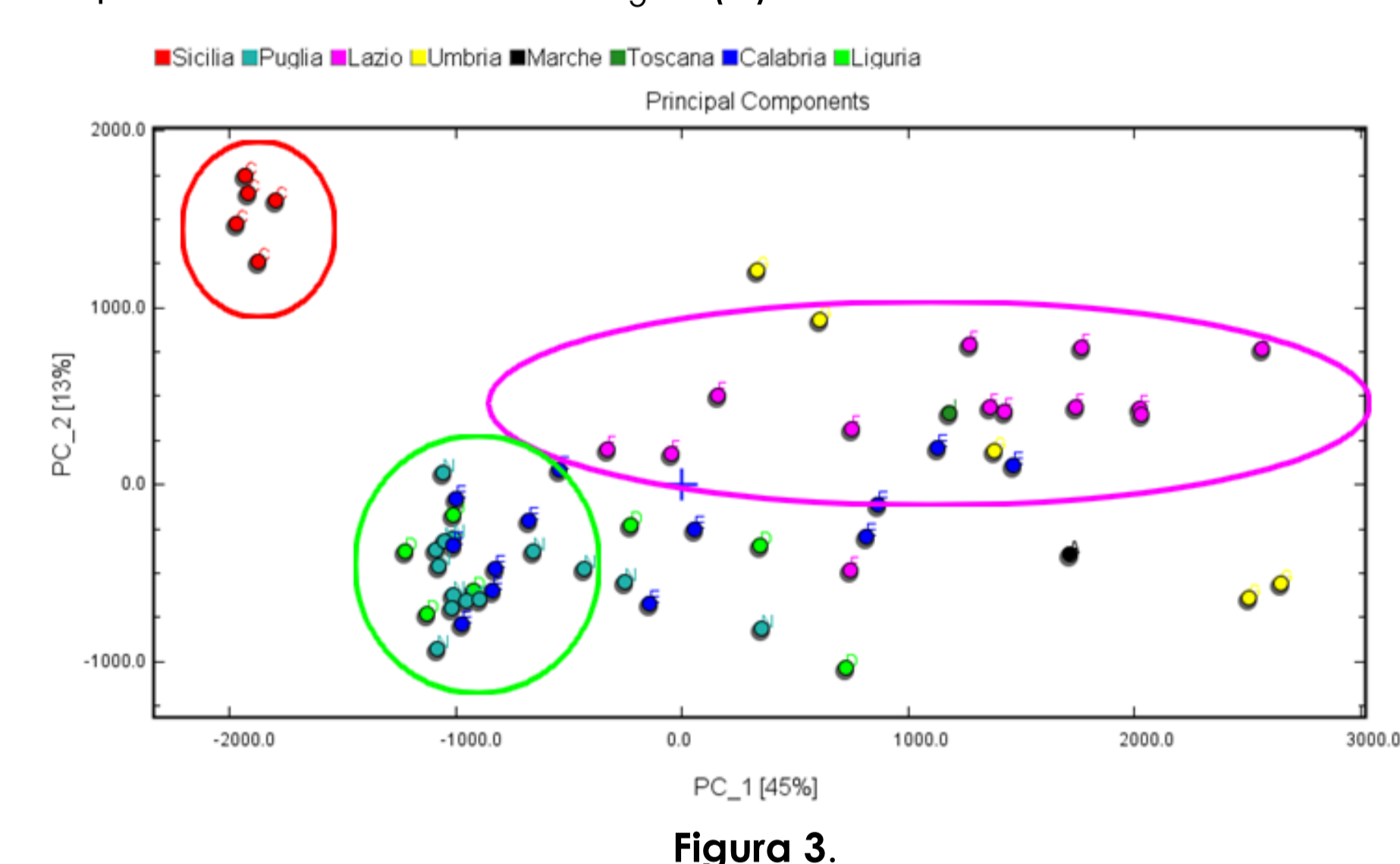


Figura 3.

Successivamente, sono state realizzate due **PCA**, prendendo in considerazione i soli 60 **OEVO** di differente **provenienza regionale italiana**, analizzati mediante **HS-GC-IMS** e **HS-SPME-GC-MS**.

Facendo riferimento alla PCA basata sui dati **HS-GC-IMS** (figura 3), il modello spiega il 58% della varianza totale con due componenti principali (rispettivamente il 44% e il 14%). Dallo *score plot* si nota un **cluster** costituito dagli **oli laziali** ed un altro, molto ben separato, costituito dagli **OEVO siciliani**, ma solo una **parziale separazione** degli **oli pugliesi**, non pienamente distinti da quelli liguri.

Il modello **PCA** costruito sui dati **HS-SPME-GC-MS** (figura 4 e figura 5) spiega il 66% della varianza totale con sei componenti principali (rispettivamente il 20%, il 16%, il 10%, il 9%, il 6% e il 5%). Nello *score plot* della **prima** e della **seconda componente** è visibile un'ottima **discriminazione** dei campioni di **Lazio, Puglia e Umbria**; le variabili responsabili di questa differenziazione (*loading plot* non mostrato) sono per la prima componente alcuni idrocarburi, un chetone, un'aldeide e un alcol a C₅, che nei campioni laziali presentano i valori massimi. Al contrario, gli oli pugliesi sono caratterizzati da concentrazioni maggiori di terpeni e di alcuni alcoli.

Lo *score plot* della **terza componente** e della **quarta componente** mostra un'ottima **discriminazione** dei **campioni liguri** (a destra) **da quelli siciliani** (a sinistra) lungo la terza componente. Di questa discriminazione (*loading plot* non mostrato) sono responsabili il 3-pentanone e alcuni alcoli saturi e insaturi a C₅ e C₆. Gli oli liguri sono, invece, caratterizzati da contenuti maggiori di alcol fenilettilico, β-ocimene e (E)-2-pentendole.

CONCLUSIONI: Il **Flavourspec®** si è dimostrato uno strumento **efficiente**, di **facile utilizzo** e **rapido** nel **discriminare l'origine geografica** degli **OEVO**, specialmente relativamente all'indicazione **"Italia"** e **"UE e NON UE"**. I dati della **HS-SPME-GC-MS** hanno sostanzialmente confermato i risultati della **HS-GC-IMS**, mostrando una maggiore capacità di discriminazione nell'ambito delle regioni italiane. Considerando i campioni analizzati, si può concludere che, probabilmente, aumentando il numero degli stessi e rendendo più rappresentativo l'insieme dei dati, potremo avere un modello più predittivo dell'origine geografica.

BIBLIOGRAFIA

Cajka T., Riddellova K., Klimankova E., Cerna M., Pudil F., Hajslova J., 2010, Traceability of olive oil based on volatiles pattern and multivariate analysis, in *Food Chemistry* 121, pag. 282-289; Cecchi L., Migliorini M., Giambanelli E., Rossetti A., Cane A., Mulinacci N., Melania F., 2020, Authentication of the geographical origin of virgin olive oils from the main worldwide producing countries: A new combination of HS-SPME-GC-MS analysis of volatile compounds and chemometrics applied to 1217 samples, in *Food Control* 112(1), 107156; Pizarro C., Rodríguez-Tecedor S., Pérez-del-Notario N., González-Sáiz J.M., 2011, Recognition of volatile compounds as markers in geographical discrimination of Spanish extra virgin olive oils by chemometric analysis of non-specific chromatography volatile profiles, in *Journal of Chromatography A* 1218, pag. 518-523; Taticchi A., Esposito S., Veneziani G., Minnocci A., Urbani S., Selvaggini R., Sordini B., Daidone L., Sebastiani L., Servili M., 2021, High vacuum-assisted extraction affects virgin olive oil quality: Impact on phenolic and volatile compounds, in *Food Chemistry* 342; Valli E., Panni F., Casadei E., Barbieri S., Cevoli C., Bendini A., García-González D.L., Gallina Toschi T., 2020, An HS-GC-IMS Method for the Quality Classification of Virgin Olive Oils as Screening Support for the Panel Test, in *Foods* 9(5):657.