

MESSA A PUNTO DI UN METODO CROMATOGRAFICO PER LA DETERMINAZIONE DELL'ERGOSTEROLO IN *EVERNIA PRUNASTRI* (L.) ACH.Andrea VANNINI¹, Massimo GUARNIERI², Guido PERRA¹, Stefano LOPPI²¹Dipartimento di Scienze Fisiche, della Terra e dell'Ambiente, Università degli Studi di Siena; ²Dipartimento di Scienze della Vita, Università degli Studi di Siena

L'ergosterolo è lo sterolo dominante nei funghi lichenizzati e il principale sterolo lipidico costituente la membrana plasmatica dei funghi. La sua concentrazione, come sostenuto in letteratura, è un indicatore della biomassa fungina metabolicamente attiva. Nella determinazione delle proprietà fisiologiche di talli lichenici esposti a differenti condizioni ambientali l'ergosterolo rappresenta un parametro correlato con l'integrità della membrana della propria componente fungina. Numerosi articoli mostrano come i protocolli di determinazione analitica di questo composto mediante High Performance Liquid Chromatography siano applicabili a molte specie licheniche. L'ergosterolo è presente in due forme: come ergosterolo libero e come ergosterolo esterificato. Molti studi si concentrano sulla determinazione della forma libera di questo composto in quanto il protocollo di estrazione non presenta uno step aggiuntivo di saponificazione. La saponificazione, che implica il trattamento con NaOH, determina la trasformazione dell'ergosterolo esterificato a ergosterolo libero consentendone una valutazione totale. Dopo saponificato l'ergosterolo totale viene recuperato mediante estrazione con n-esano. Il processo di saponificazione permette inoltre l'eliminazione o la riduzione del carico lipidico e dei pigmenti fotosintetici presenti nel campione, correggendo evidenti interferenze cromatografiche. In questo lavoro viene proposto un protocollo di estrazione, saponificazione e purificazione dell'ergosterolo per la specie *E. prunastri* valutandone il recupero tramite il metodo dell'aggiunta di standard su matrice. Questo metodo prevede l'aggiunta, a un quantitativo noto nel campione, di note quantità di standard nell'ordine di 1, 5, 10 e 20 µg/mL, applicandovi successivamente il protocollo di saponificazione. I risultati mostrano come il recupero della metodologia vari in un range di valori 80-123%. Per ogni campione analizzato il recupero può essere valutato attraverso l'utilizzo dell'equazione della curva derivata dall'interpolazione del valore dei recuperi con le concentrazioni rilevate dopo l'aggiunta dello standard su matrice, avente equazione $y = 73,346e^{0,0339x}$, dove x rappresenta la concentrazione dell'ergosterolo del campione saponificato e y il recupero. I valori di concentrazione dell'ergosterolo misurati in campioni di *E. prunastri* prelevati da aree remote sono risultati compresi nel range 0,3-0,5 µg/mg.