

Détection des mycotoxines dans les noix

Les mycotoxines sont des métabolites secondaires dits naturels puisqu'elles sont synthétisées par les moisissures. Leur effet peut être toxique pour l'homme et l'animal. Tout comme les microorganismes produisant des antibiotiques, les variétés de moisissures produisant des mycotoxines sont présentes dans le monde entier.

Parmi les mycotoxines, les aflatoxines sont les plus toxiques. Les aliments qui présentent un risque accru de sécrétion d'aflatoxine du fait de leur contamination fongique sont outre les fruits secs et les épices aussi tous les types de noix (cacahuètes, noisettes, pistaches, par exemple) et les céréales (blé, maïs, par exemple).

© www.enius.de



■ Noisettes avant le broyage



■ Le résultat du pré-broyage

Les mycotoxines sont souvent produites seulement dans certaines conditions favorables de température et d'humidité et avec un grand apport en nutriments, les aliments étant ici tout indiqués. Cette occurrence de mycotoxines est presque toujours due à de mauvaises conditions de stockage ou à un stockage de trop longue durée. Le problème est souvent qu'il ne se forme pas seulement une substance mais toute une famille de composés chimiquement apparentés. Les mycotoxines sont particulièrement thermostables et en général, elles ne sont donc pas détruites au cours de la transformation des produits alimentaires.

Pré-broyage et broyage fin

Afin d'extraire suffisamment bien les mycotoxines de la matière à analyser, l'échantillon doit d'abord être broyé et homogénéisé.

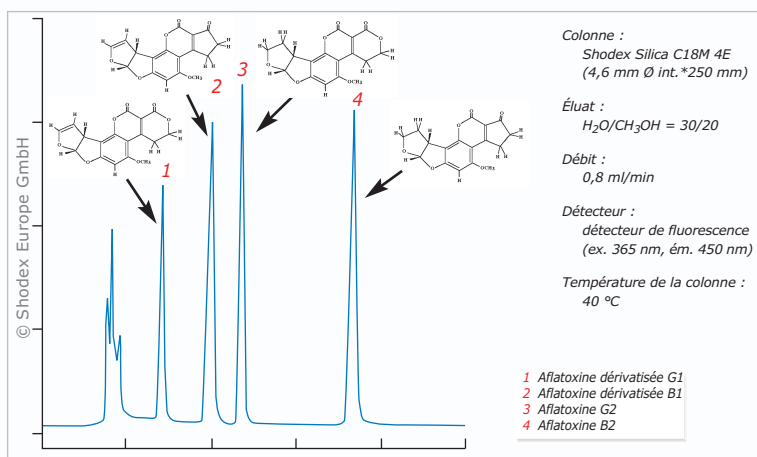
Comme les valeurs limites pour la charge en mycotoxines varient entre 0,025 et 15 µg/kg et qu'une attaque fongique est en principe de type local ou ponctuel, un échantillon prélevé au hasard doit être suffisamment grand pour pouvoir prouver une contamination. Pour ce faire, on commence par pré-broyer une quantité représentative d'env. 1 à 2 kg par tonne de noix avec le **broyeur à couteaux SM 100** jusqu'à l'obtention de particules d'une taille d'env. 1 à 3 mm. Ce broyeur est notamment utilisé pour le broyage rapide et soigneux de matières sèches jusqu'à une granulométrie finale de 0,25 mm. Une division représentative de l'échantillon est ensuite effectuée avec le **diviseur d'échantillons rotatif PT 100** qui se

distingue par une précision de division extrêmement grande. La fraction d'échantillon obtenue est ensuite soumise à un **broyeur ultra-centrifuge ZM 200** étant ici la solution idéale. Ce broyeur à rotor performant se distingue par son maniement simple et sûr et du fait de la vaste gamme d'accessoires, par son utilisation polyvalente. C'est ainsi que les **tamis d'écartement** spécialement conçus pour le broyage d'échantillons cassants thermosensibles se prêtent par exemple particulièrement bien à la préparation des noisettes. Comme les mycotoxines sont très liposolubles, le broyage doit être effectué avec le plus grand soin possible afin d'éviter le rejet de matières grasses de la matière échantillon. Une granulométrie d'env. 300 µm suffit pour la prochaine étape qui consiste à extraire les mycotoxines de la matière échantillon.

Extraction

Pour l'extraction, 25 g de l'échantillon homogénéisé sont ajoutés à 200 ml d'un mélange eau/acétonitrile (16+84 v/v) puis agités pendant 60 minutes et filtrés. On extrait 100 ml du filtrat avec 100 ml d'éther de pétrole ; la phase éther de pétrole est rejetée. Un aliquot est mélangé à un complexe de charbon actif / Al₂O₃ / célite (7:5:3 - w/w/w) et brassé pendant 10 minutes, puis centrifugé, le liquide surnageant est évaporé et le résidu est mélangé à de l'eau. La solution est déposée sur une colonne d'immunoaffinité, purifiée avec de l'eau et éluée avec du méthanol. L'éluat est ensuite séparé par HPLC.

Chromatographie liquide haute performance (HPLC)



La figure montre un chromatogramme typique d'un échantillon contaminé par les aflatoxines. Il est non seulement possible de détecter le type de mycotoxine, mais aussi de déterminer exactement la charge contaminante.

La chromatographie liquide haute performance (High Performance Liquid Chromatography ou HPLC en anglais) est une méthode d'analyse qui se distingue par une série d'avantages comme la **haute sélectivité**, la **reproductibilité** et les **très basses limites de détection**.

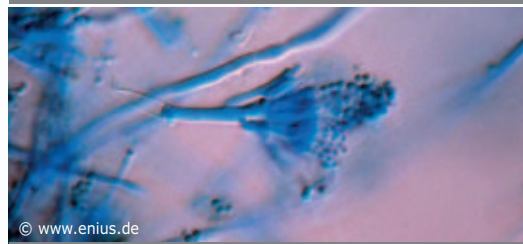
Pour la préparation des échantillons, on dispose avec les colonnes d'immunoaffinité (IA) disponibles sur le marché de colonnes d'extraction en phase solide (SPE) spéciales avec lesquelles les aflatoxines sont isolées par des anticorps de liaison sélective et éluées de la matrice avec des solvants organiques. Les extraits d'échantillon obtenus sont finalement séparés par le biais d'une phase HPLC RP18 et les mycotoxines sont détectées par fluorescence après une dérivatisation post-colonne la plupart du temps effectuée avec une solution de brome ou d'iode.

Il n'est pas rare que la mainlevée de la saisie de cargaisons dépende de la possibilité de déterminer la teneur en aflatoxines des noix au plus vite et avec exactitude. La méthode décrite ci-dessus donne en peu de temps des résultats représentatifs et garantit ainsi une sécurité optimale non seulement pour le fournisseur mais aussi pour le consommateur.

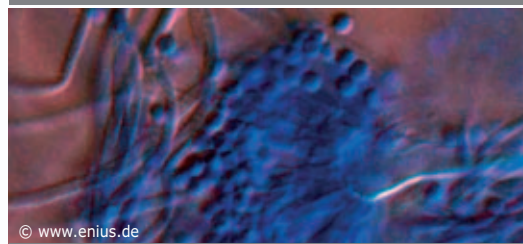
LES PRINCIPALES MOISSISSURES PRODUISANT DES MYCOTOXINES



ALTERNARIA



PENICILLIUM



ASPERGILLUS



BROYEUR À COUTEAUX SM 100

- Matière chargée : molle, mi-dure, élastique, fibreuse
- Granulométrie initiale : < 60 x 80 mm
- Granulométrie finale : 0,25 - 20 mm
- Granulométrie finale variable suivant les tamis de fond
- 3 types de trémie pour différents matériaux
- Faible sollicitation thermique de la matière à broyer

SM 100