

Determinazione delle micotossine nelle noci

© www.eni.us.de

Le micotossine sono metaboliti secondari delle muffe ed esercitano un'azione tossica tanto sull'organismo umano quanto sugli animali. Le specie di muffe tossigene godono, parimenti ai microrganismi responsabili della biosintesi degli antibiotici, diffusione per così dire internazionale.

Le aflatossine sono ritenute la forma di micotossine più tossica. Oltre alla frutta secca e alle spezie, gli alimenti più suscettibili alla crescita fungina e, quindi, più esposti alla contaminazione diretta da aflatossine sono le noci (ad esempio arachidi, nocciole, pistacchi) e i cereali (ad esempio grano e mais).



La biosintesi delle micotossine è spesso legata a precise condizioni di temperatura e umidità nonché, come nel caso dei generi alimentari, alla presenza di abbondante substrato nutritivo. La causa primaria della loro formazione è uno stoccaggio inadeguato o troppo prolungato delle derrate alimentari. Nella maggior parte dei casi non viene prodotta una singola tossina ma un gruppo eterogeneo di sostanze chimiche affini. Le micotossine sono prevalentemente resistenti al calore e non vengono quindi distrutte completamente durante i processi di preparazione degli alimenti.



■ **Nocciole prima della riduzione**



■ **Il risultato della macinazione preliminare**

Macinazione preliminare e fine

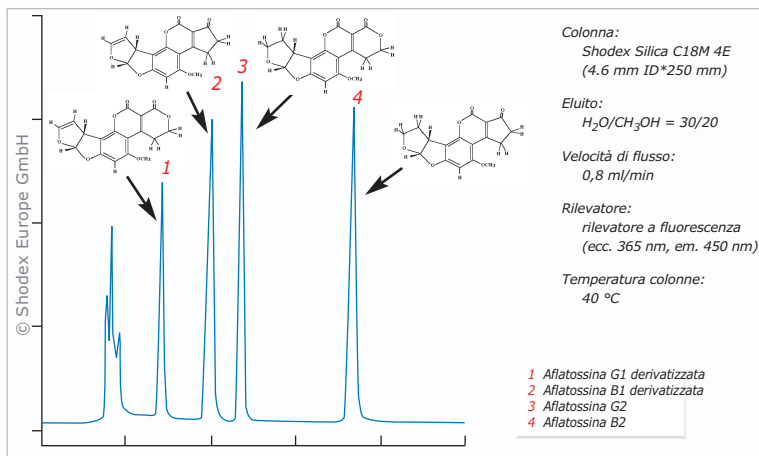
Per un'estrazione sufficientemente accurata delle micotossine dal prodotto di partenza, il campione deve essere sottoposto a macinazione preliminare e successiva omogeneizzazione. Poiché i limiti massimi di micotossine sono compresi in un range da 0,025 a 15 µg/kg e le muffe si sviluppano spesso formando nidi isolati, il campione random prelevato deve essere quantitativamente tale da consentire la determinazione di un'eventuale contaminazione. La prima fase del pretrattamento del campione consiste quindi nella macinazione preliminare di una quantità rappresentativa di prodotto, vale a dire circa 1 – 2 kg per ogni tonnellata di noci, nel **mulino a taglienti RETSCH SM 100** fino a ottenere una granulometria in uscita di 1 – 3 mm. L'SM 100 trova applicazione in particolare nella macinazione rapida e delicata di materiali secchi e permette di ottenere finenze finali nell'ordine di 0,25 mm. Il passo successivo prevede il prelievo di una frazione rappresentativa di macinato con il **ripartitore di campioni**

PT 100, un divisore rotante che assicura una ripartizione eccezionalmente accurata del materiale processato. Il subcampione così ottenuto viene quindi sottoposto a **riduzione fine**. A tale scopo si consiglia l'impiego di un altro strumento RETSCH, il **mulino ultracentrifugo ZM 200**. Potente, sicuro e di facile utilizzo, questo mulino a rotore dispone inoltre di un ricco range di accessori che lo rendono idoneo a un ampio spettro di applicazioni. Per il trattamento delle nocciole, ad esempio, lo strumento può essere equipaggiato con speciali **setacci anulari distanziati**, sviluppati per la macinazione di campioni fragili e termolabili. Tenuto conto che le micotossine sono altamente liposolubili, la riduzione dovrebbe essere effettuata con la massima delicatezza possibile per evitare la separazione della materia grassa contenuta nel campione. Per la successiva estrazione delle micotossine dal materiale campione è sufficiente una finezza finale nell'ordine dei 300 micron.

Estrazione

Per l'estrazione si mescolano 25 g di campione omogeneizzato con 200 ml di una miscela acqua / acetonitrile (16 + 84 v/v); la soluzione ottenuta viene tenuta in agitazione per 60 minuti e filtrata. Quindi si procede all'estrazione di 100 ml di filtrato con 100 ml di etere di petrolio e si scarta la fase eterea. Si aggiunge un'aliquota della fase residua con carbone attivo / Al_2O_3 / Celite (7:5:3 - w/w/w), si tiene in agitazione per 10 minuti e quindi si omogeneizza. La parte dispersa viene ora evaporata e ridisciolta con acqua. La soluzione viene introdotta in una colonna ad immunoaffinità, lavata con acqua ed eluita con metanolo. L'eluato ottenuto viene quindi analizzato mediante HPLC.

Cromatografia liquida ad alta prestazione



Nella figura è riportato il tipico cromatogramma di un campione contaminato da aflatossine. Il metodo consente tanto la determinazione del tipo di micotossina quanto l'esatta valutazione quantitativa della contaminazione.

La cromatografia liquida ad alta prestazione (High Performance Liquid Chromatography o HPLC) è una tecnica analitica che abbina vantaggi quali **selettività e riproducibilità elevate a limiti di rilevabilità particolarmente bassi**. Per la preparazione del campione, in commercio sono disponibili speciali colonne a immunoaffinità per l'estrazione in fase solida (SPE). Tali colonne si basano sull'utilizzo di anticorpi specifici capaci di legare le aflatossine isolandole così dalla matrice. Vengono poi rilasciate eluendo con solventi organici. Gli estratti ottenuti sono quindi separati in una colonna a fase inversa RP 18. La rivelazione delle micotossine avviene con detector a fluorescenza dopo derivatizzazione post-colonna, generalmente condotta con soluzioni di iodio o bromo.

La messa in vendita di interi carichi di noci stivati nei porti di tutta l'Europa dipende spesso dalla possibilità di determinare rapidamente ed esattamente la concentrazione delle aflatossine. Il metodo analitico qui descritto assicura risultati rappresentativi, tempi di saggio contenuti e, di conseguenza, la massima sicurezza possibile sia per il fornitore che per il consumatore.

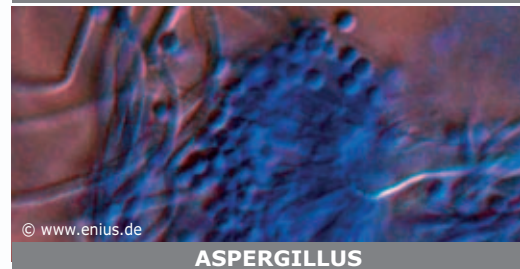
I PRINCIPALI FUNGHI TOSSIGENI



ALTERNARIA



PENICILLIUM



ASPERGILLUS



MULINO A TAGLIELNTI SM 100

- Tipologie di materiali: morbido, medio-duro, elastico, fibroso
- Granulometria in ingresso: < 60 x 80 mm
- Finezza finale: 0.25 - 20 mm
- Finezza in uscita definita mediante impiego di setacci di fondo
- 3 tipologie di tramogge per l'alimentazione con materiali differenti
- Campione soggetto a basso stress termico

SM 100