



## I Materiali di Riferimento per la qualità e la sicurezza alimentare

C. Zoani, P. Sangiorgio

Per rendere oggettive e misurabili la qualità e la sicurezza alimentare, è necessario sviluppare metodologie analitiche accurate e sensibili che consentano di individuare e quantificare contaminanti, sostanze nutrizionali o nutraceutiche, *markers* di origine, ingredienti e additivi, o che consentano di individuare frodi e sofisticazioni. Per assicurare la comparabilità e garantire la riferibilità dei risultati delle misurazioni è necessario disporre di adeguati *tools* metrologici e, in particolare, di adeguati metodi e materiali di riferimento. I Materiali di Riferimento (RM) rappresentano in molti casi l'unico strumento a disposizione per garantire la qualità delle misure chimiche e biologiche e possono essere utilizzati per la validazione dei metodi e la verifica delle prestazioni, la taratura degli strumenti, la determinazione dell'incertezza di misura,



Materiali di Riferimento (RM): materiale sufficientemente omogeneo e stabile rispetto a proprietà specificate, che si è stabilito essere idoneo per l'utilizzo previsto in una misurazione o nell'esame di proprietà classifichatorie [Vocabolario Internazionale di Metrologia, III Ed., CEI-UNI 70099 - 2010]



Figura 1  
Impianti ENEA per la produzione di Materiali di Riferimento – alcune attrezzature e fasi di lavorazione

l'assegnazione di valori a materiali e il controllo di qualità. Nel settore agroalimentare i RM vengono impiegati nei controlli di sicurezza, per dimostrare la qualità dei prodotti, valorizzare materie prime e prodotti di specifiche aree territoriali e/o garantirne origine e rintracciabilità, o per qualificare gli agroecosistemi di produzione.

A fronte di una produzione complessiva di ca. 10500 RM totali, l'attuale produzione, a livello mondiale, specificatamente per il settore agroalimentare, è di ca. 600 *matrix*-RM, ossia materiali di origine naturale o sintetica stabili ed omogenei per una o più proprietà e quanto più possibile simili – per composizione e stato chimico e chimico-fisico – ai campioni da analizzare. Le necessità di nuovi RM sono strettamente correlate alle nuove esigenze analitiche e alle problematiche emergenti di sicurezza alimentare, quali ad esempio l'applicazione delle nanotecnologie e l'impiego di nanoparticelle (ad es. come ingredienti e/o additivi, nelle tecnologie di processo, nello sviluppo di packaging innovativi) o l'applicazione delle biotecnologie nei processi produttivi. Parallelamente, sono necessari RM per rispondere alle nuove esigenze analitiche legate alla determinazione degli effetti positivi prodotti dalle sostanze nutraceutiche e dalle sostanze naturali ad azione protettiva sulla salute, o ancora all'individuazione di *markers* e profili chimici e genetici per dimostrare l'origine geografica e/o biologica (botanica, zoologica, genetica) di materie prime e prodotti. In quest'ultimo caso, la disponibilità di *matrix*-RM di origine nota, accompagnati da dati e informazioni riguardo ai profili chimici e genetici, oltre ad essere essenziale per l'applicazione e la validazione delle metodologie, rende possibile – attraverso l'applicazione di tecniche analitiche multiparametriche e di tecniche chemiometriche – l'identificazione di nuovi *markers* e lo sviluppo di nuove metodologie.



Figura 2  
Impianto RM agroalimentari Centro Ricerche Trisaia dell'ENEA: omogeneizzazione di prodotti liquidi e in polvere VRIECO-NAUTA® Conical Mixer (240 L)

L'ENEA ha svolto a livello nazionale attività pionieristica nella Metrologia in Chimica e fin dagli anni 70 partecipa ad attività internazionali su Materiali e Metodi di Riferimento. Nell'ambito di diversi progetti di ricerca nazionali e comunitari, l'ENEA ha realizzato specifici impianti dedicati alla preparazione di RM e conduce attività di R&ST per lo sviluppo di nuovi RM, anche con caratteristiche innovative. In particolare, presso il Centro Ricerche Casaccia (Roma) sono presenti un impianto per gli studi di fattibilità e la preparazione di RM – anche *custom*- in piccoli lotti (fino a 100 unità) ed i laboratori per la caratterizzazione degli RM e gli studi di omogeneità e di stabilità sotto stress termico e luminoso.

Presso il Centro Ricerche Trisaia (Basilicata) dell'ENEA, si trova invece un impianto specificatamente dedicato al settore agroalimentare per la produzione di RM su grande scala (lotti fino a 1000 unità, unità da 25÷100 g), dotato di 3 linee di produzione distinte per RM liofilizzati, liquidi e di suoli.

Mediante questi impianti l'ENEA ha realizzato sia soluzioni di taratura monoelementali che *matrix*-RM di origine naturale, opportunamente resi stabili e omogenei, da utilizzare come RM per le prove interlaboratorio, per lo sviluppo dei metodi e per dimostrare la comparabilità dei risultati. In particolare, sono stati preparati lotti di *matrix*-RM per le seguenti matrici alimentari: farina e granella di grano tenero e grano duro; concentrato di pomodoro, pomodori pelati e passata di pomodoro liofilizzati; funghi champignon; fragole; broccoli; miele fluido e liofilizzato; mosto concentrato rettificato; mangime per pesci.

L'ENEA collabora poi da oltre dieci anni con il Laboratorio di Riferimento Europeo per gli elementi chimici negli alimenti di origine animale (EU RL-CE-FAO) presso l'Istituto Superiore di Sanità, nella preparazione di *matrix*-RM da utilizzare per i *Proficiency Testings* verso i Laboratori Nazionali di Riferimento (NRL). La collaborazione ha riguardato, in particolare, la realizzazione dei seguenti RM liofilizzati: latte intero e parzialmente scremato, infant formula, muscolo suino, muscolo bovino, fegato bovino, muscolo di pesce, tessuto di mitili.

Nel settore dei materiali di riferimento, l'ENEA è impegnata in attività di R&S finalizzate alla realizzazione di RM con caratteristiche innovative. In particolare ha sviluppato: *Single Use*-RM, *Double Phase*-RM, *Procedural*-RM. I *Single Use*-RMs (*SU*-RM) sono materiali forniti in forma pre-dosata da utilizzare direttamente come aliquota analitica. Sono stati realizzati diversi *SU*-RM di prodotti agroalimentari liofilizzati in forma di pasticche (ad es.: fragole, pomodori, funghi) e per alcune specifiche matrici (es. miele fluido) è stata valutata la possibilità di prepararli in forma di capsule monouso. I *Double Phase*-RM (*DP*-RM) sono RM separati durante il processo di preparazione nelle due fasi, liquida (generalmente acquosa) e solida (prodotto deidratato, generalmente liofilizzato), e poi ricombinati prima dell'uso, con grandi vantaggi in termini di rappresentatività. I *Procedural*-RM sono RM rappresentativi del campione in diverse fasi della procedura analitica, estremamente vantaggiosi, soprattutto per particolari combinazioni analita-matrice, che presentano problematiche di stabilità. Sono stati condotti studi di fattibilità ad esempio per la realizzazione di RM di lattughino in forma di estratto in metanolo da impiegare per la determinazione di metaboliti secondari.

L'ENEA è, inoltre, impegnata nello sviluppo di *Multiparameter*-RM, in considerazione della crescente necessità di RM caratterizzati per un sempre più ampio numero di parametri contemporaneamente, al fine di sviluppare e mettere a punto tecniche di analisi multiparametrica da impiegare negli studi di autenticità e rintracciabilità, attraverso la definizione di *markers* e profili elementali, molecolari e/o genetici. È stato recentemente condotto, ad esempio, uno studio di fattibilità per lo sviluppo di un RM di miele caratterizzato per il profilo elementale da utilizzare, oltre che per la determinazione di nutrienti e contaminanti, per la definizione di *fingerprints* elementali caratteristici connessi con l'origine botanica e geografica, ed è in studio la possibilità di utilizzare anche metodologie di analisi Raman per la definizione di profili molecolari.

Sono attualmente in corso due nuovi studi di fattibilità. Il primo riguarda lo sviluppo di un *Multiparameter*-RM di Acido Polilattico (PLA) tal quale e di PLA funzionalizzato con argento (Ag-PLA), da impiegare per la caratterizzazione di materiali a contatto e per i test di migrazione. Il secondo riguarda la realizzazione di un RM di grano (farina e granella di grano tenero e duro) da certificare per il contenuto di micotossine (DON e Ac-DON), nel quale la contaminazione da micotossine è stata ottenuta mediante inoculo delle granaglie con il fungo micotossinogeno e successiva crescita in ambiente controllato. È inoltre allo studio la possibilità di realizzare *Driven*-RM, effettuando l'inoculo direttamente in campo durante la coltivazione; ciò al fine di ottenere una maggiore rappresentatività della condizione naturale di contaminazione.

Con lo scopo di consentire la condivisione, l'integrazione e la razionalizzazione dei dati e delle informazioni sugli strumenti metrologici disponibili e di fornire a tutti gli utenti interessati un sistema integrato in supporto all'armonizzazione e alla standardizzazione delle analisi di materie prime e prodotti, l'ENEA ha realizzato un database – periodicamente aggiornato – che raccoglie la produzione mondiale di RM per il settore agroalimentare e sta implementando una piattaforma web *open-access* che potrà permettere di ottenere, per una determinata combinazione analita-matrice, tutte le informazioni su RM, metodi ufficiali di analisi, *Proficiency Testings* e valori soglia.

Le attività svolte dall'ENEA sui Materiali di Riferimento si inseriscono nel quadro più ampio delle azioni condotte a livello internazionale a sostegno dello sviluppo della Metrologia per Alimenti e Nutrizione, soprattutto in ambito IMEKO (International Measurement Confederation) e, a livello nazionale, per il rafforzamento dell'infrastruttura metrologica, sia tramite la partecipazione a commissioni tecniche di standardizzazione (es.: UNI CEI Metrologia), che attraverso l'inserimento di queste tematiche nei progetti nazionali inerenti la Qualità & Sicurezza alimentare (es.: progetto CNR-ENEA Legge Finanziaria 2010 "Conoscenze integrate per sostenibilità e innovazione del Made in Italy agroalimentare", Progetto Cluster Agrifood Nazionale "Safe&Smart - Nuove tecnologie abilitanti per la food safety e l'integrità delle filiere agroalimentari in uno scenario globale"; progetto PON MIUR "M2Q - Laboratorio pubblico privato di R&S in campo agroindustriale").

Per approfondimenti:  
claudia.zoani@enea.it, paola.sangiorgio@enea.it

Gruppo di Lavoro:  
Giovanna Zappa (team leader), Rosanna Gatti, Antonello Manniello,  
Salvatore Palazzo, Paola Sangiorgio, Claudia Zoani