


lab





Contaminazione alimentare da idrocarburi, la problematica MOSH/MOAH

54

MOSH (Mineral Oil Saturated Hydrocarbons) e MOAH (Mineral Oil Aromatic Hydrocarbons), due classi di composti chimici responsabili delle cosiddette "contaminazioni idrocarburiche" degli alimenti, che negli ultimi anni hanno sempre più attirato l'attenzione di scienziati e ricercatori. E se, ad oggi, non esiste una normativa volta a definire i limiti accettabili di un'eventuale contaminazione alimentare, è pur sempre possibile affrontare e approfondire la tematica MOSH/MOAH dal punto di vista analitico.

Andrea Carretta

Senior Application Specialist, SRA Instruments

Sarà probabilmente capitato al lettore di imbattersi in articoli pubblicati sulla stampa generalista nell'acronimo MOSH/MOAH; in particolare, con riferimento a contaminazioni idrocarburiche a carico di alimenti e relativi materiali di imballaggio. La questione, affrontata in ambito scientifico già a partire dalla fine degli anni '80, negli ultimi anni ha assunto una visibilità sempre maggiore, soprattutto dopo un pronunciamento ufficiale dell'autorità europea per la sicurezza alimentare pubblicata nel 2012¹. La questione, in effetti, è di grande attualità, per almeno tre motivi:

- la potenziale pericolosità dei contaminanti in oggetto, nonché la loro diffusione in una vastissima gamma di alimenti e materiali da imballaggio, è ormai assodata da un'enorme mole di studi scientifici;
- ad oggi, sono state pubblicate a livello comunitario varie linee guida, volte a definire dei limiti di "contaminazione accettabile"; tuttavia, non esiste attualmente una normativa cogente in tal senso, né a livello italiano né a livello europeo;
- il metodo universalmente accettato presenta diverse peculiarità difficilmente riscontrabili in ambito chimico-analitico.

In ormai oltre tre decenni di studi, la letteratura scientifica, i convegni organizzati, i pronunciamenti ufficiali e tutto quanto ruota attorno alla tematica MOSH/MOAH sono innumerevoli; con tali presupposti, la pretesa di descriverne lo “stato dell’arte” è impresa improba. Un po’ più semplice è invece puntualizzarne alcuni aspetti fondamentali, soprattutto sotto il profilo analitico.

COSA SI INTENDE PER MOSH/MOAH²

Sotto i due acronimi si nascondono in realtà sterminate classi di composti chimici. Nello specifico, la differenziazione è la seguente:

- i MOSH (*Mineral Oil Saturated Hydrocarbons*) comprendono, in linea di principio, tutte le sostanze chimiche aventi formula C_nH_{2n+2} , ovvero tutti gli idrocarburi saturi, ramificati e non³;
- i MOAH (*Mineral Oil Aromatic Hydrocarbons*) comprendono strutture mono o poliaromatiche⁴, variamente sostituite da catene alchiliche.

Il motivo per il quale è necessario dosare separatamente le due classi è dovuto alla loro tossicità, sensibilmente maggiore nel caso della frazione aromatica.

TECNICA ANALITICA

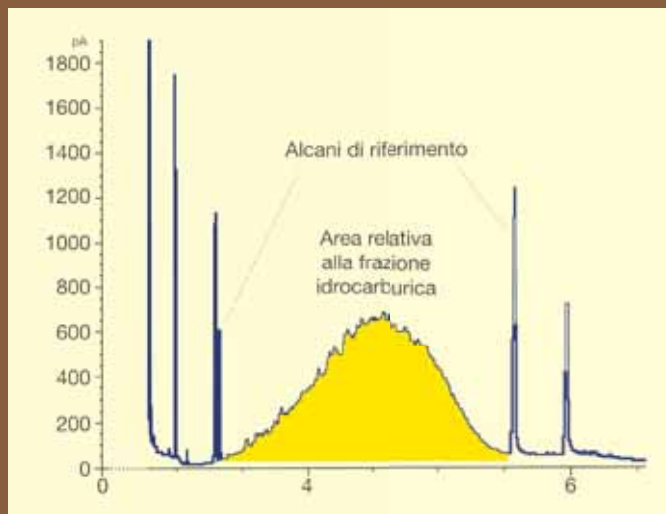
Quando si parla genericamente di “oli minerali” si fa riferimento, almeno potenzialmente, a migliaia di analiti. Di qui la peculiarità della tecnica di quantificazione, la quale non prevede il dosaggio (oggettivamente impossibile) di ciascuna possibile struttura, ma la quantificazione dell’intera classe identificata in un intervallo definito dai tempi di ritenzione di alcani lineari di riferimento. Un esempio di gascromatogramma è riportato in figura 1.

Poiché non è possibile discriminare per via gascromatografica le due frazioni, è necessario separarle preventivamente. Il metodo universalmente accettato prevede una preparativa in SPE (*Solid Phase Extraction*): utilizzando un’opportuna colonna separativa e solventi a diversa polarità, è possibile eluire MOSH e MOAH in tempi diversi, in modo da poterli poi analizzare separatamente.

Da ormai diversi anni, tale procedura è implementabile su piattaforme analitiche automatizzate, che pre-

Figura 1

Cromatogramma della frazione MOSH relativa all’analisi di un olio EVO contaminato



vedono l'utilizzo di un cromatografo liquido in grado di effettuare on-line la pre-separazione delle due frazioni, e un successivo trasferimento immediato delle stesse in un gascromatografo equipaggiato con un opportuno sistema di iniezione e un rivelatore a ionizzazione di fiamma (*Flame Ionization Detector*, FID). L'accoppiamento LC/GC, che rappresenta il punto focale del sistema, può essere realizzato tramite due modalità (figura 2):

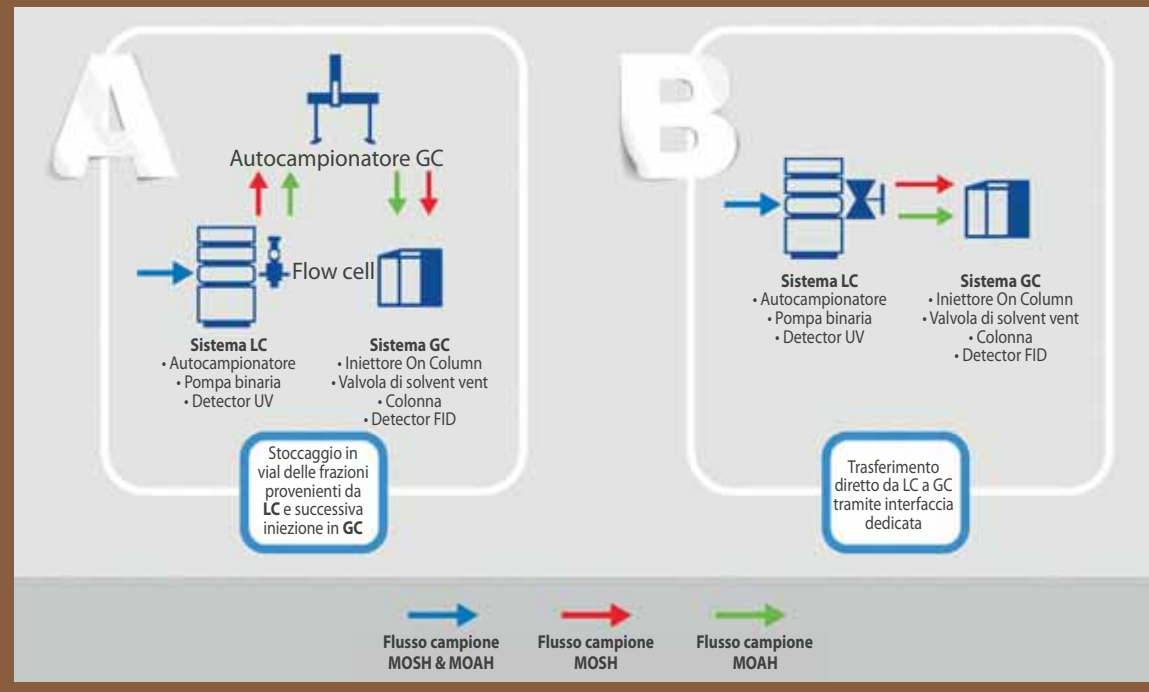
- stoccaggio in vial delle due frazioni e successiva iniezione delle stesse in GC, tramite impiego di un opportuno autocampionatore;
 - trasferimento diretto al GC via interfaccia dedicata.
- Molti sono gli aspetti critici da considerare nell'affrontare la determinazione MOSH/MOAH, principalmente legati a sensibilità e presenza di interferenti.

Come detto, non esistono normative che prescrivano un limite minimo di quantificazione. Tuttavia, molti Paesi (e la stessa Ue) hanno via via proposto delle linee guida indicando dei valori massimi di contaminazione. Nello specifico, ad oggi, si tendono a riguardare concentrazioni dell'ordine di 0,5-5 mg/kg, in relazione prevalentemente alla tipologia della matrice⁵. Per raggiungere tali livelli è necessario ottimizzare tecniche di introduzione del campione in GC che consentano l'iniezione di centinaia di µl.

Anche la manipolazione del campione è fondamentale: tecniche di saponificazione consentono di abbattere il tenore di sostanza grassa (aumentando così la

Figura 2

Flusso del campione nelle due modalità, stoccaggio e trasferimento diretto delle frazioni



sensibilità, grazie alla rimozione della maggior parte degli interferenti); inoltre, vista la presenza endogena in diverse matrici oleose di olefine naturali che potrebbero indurre a sovrastimare la frazione MOAH, è spesso necessario procedere alla loro rimozione preventiva con opportuna epossidazione⁶.

PROBABILI SVILUPPI FUTURI

Come già detto in precedenza, si è al momento in assenza di una chiara normativa di riferimento.

A tal proposito, pur non essendoci formali prese di posizione in merito, è lecito attendersi in un prossimo futuro, indicazioni specifiche da parte dei vari legislatori. Ciononostante, l'attenzione crescente posta sull'argomento ha fatto sì che un numero sempre crescente di aziende abbiano iniziato a richiedere espressamente il dosaggio MOSH/MOAH, non solo su materie prime in ingresso e prodotti finiti, ma anche su imballaggi destinati al contatto alimentare. Per tale ragione, sono ormai molti i laboratori di analisi ad essersi già dotati di una strumentazione adeguata allo scopo. •

1. European Food Safety Authority (EFSA). Scientific opinion on mineral oil hydrocarbons in food - EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM), EFSA J., 2012; 10(6):2704.
2. Esistono in realtà ulteriori sotto-classificazioni, quali POSH, POAH ecc., non considerate in questa sede.
3. Per la precisione, all'interno dei MOSH rientrano anche i naftenici: idrocarburi mono o poli ciclici, formalmente insaturi, ma privi di legami π .
4. Alla classe MOAH si ascrivono anche gli idrocarburi policiclici aromatici (IPA), che sono però oggetto di normative e tecniche analitiche specifiche.
5. Questo relativamente all'analisi di matrici alimentari. Un discorso a parte meriterebbero i materiali utilizzati come imballaggi, che rappresentano un'importante potenziale fonte di contaminazione. A tal proposito, l'Istituto Italiano Imballaggio ha avviato un gruppo di lavoro che sta redigendo una linea guida inerente all'argomento. La pubblicazione è prevista entro l'anno in corso.
6. Il problema della potenziale sovrastima della frazione MOAH è di primaria importanza, non solo relativamente alla presenza di olefine endogene in particolari matrici. Da alcuni anni, sono stati intrapresi studi volti a una più approfondita speciazione. Due delle tecniche più promettenti in tal senso sono la gascromatografia bidimensionale comprehensive (GCxGC), e la spettroscopia UV in regime di vuoto accoppiata alla gascromatografia (GC-VUV).



Residui di farmaci negli alimenti, individuarli è una sfida continua

Secondo i dati disponibili in letteratura, più del 90% dei farmaci utilizzati viene immesso nell'ambiente – senza contare quelli non correttamente smaltiti – con conseguenti effetti negativi o indesiderati sulle popolazioni animali e vegetali e, di riflesso, sull'uomo. Dall'ambiente agli alimenti, infatti, il passo è breve. Sull'argomento, "lab" ha intervistato Sergio Caroli, già Dirigente di Ricerca dell'Istituto Superiore di Sanità (ISS) e attualmente membro del Consiglio Direttivo della Società Italiana di Medicina Farmaceutica (SIMEF).

a cura di Giovanni Abramo
Biologo

L'inquinamento ambientale da farmaci è una preoccupazione globale e in continua crescita, in quanto strettamente correlato al rischio che residui e metaboliti di principi attivi appartenenti alle più svariate classi terapeutiche possano essere assunti con gli alimenti e rappresentare così una minaccia per i consumatori.

lab: Contaminazione alimentare da farmaci. Quali le fonti?

Sergio Caroli: I farmaci, da cui oggi dipende in modo sempre più rilevante la tutela della salute, sono per definizione sostanze biologicamente attive relativamente resistenti alla biodegradazione. Come tali possono essere causa di effetti nocivi per l'uomo e per l'ambiente qualora se ne faccia un uso improprio, se ne abusi o siano smaltite in modo errato. I medicinali sono infatti sviluppati al fine di interagire con specifici percorsi metabolici e molecolari negli esseri umani e negli animali. Poiché essi possono esercitare la loro azione anche a bassissime concentrazioni, è presumibile che possano avere effetti indesiderati sulle comunità animali e vegetali con cui vengano a contatto e di riflesso, quindi, sugli esseri umani. I residui e i metaboliti di prodotti farmaceutici per uso umano che, pur non intenzionalmente, vengono a disperdersi nei vari compartimenti ambientali possono quindi entrare nella catena trofica e finire così per essere assunti con gli alimenti sia di origine vegetale che animale, costituendo perciò una seria minaccia alla salute del consumatore. Questi contaminanti sono considerati come inquinanti pseudo-persistenti, poiché le loro rapide cinetiche di trasformazione e rimozione sono controbilanciate dalla loro costante introduzione nell'ambiente a causa delle attività antropiche. Questo problema si aggrava poi significativamente per l'impiego intenzionale nel caso degli animali da allevamento, acquicoltura compresa, di farmaci veterinari idonei a favorire il mantenimento di condizioni

di salute ottimali negli organismi animali stessi e a minimizzare l'insorgenza di patologie rilevanti nelle condizioni di sovraffollamento che caratterizzano tali allevamenti.

lab: Quale classe di farmaci viene maggiormente riscontrata negli alimenti?

SC: Vi è in realtà un'ampia gamma di residui di farmaci per uso sia umano sia veterinario la cui presenza è riscontrabile negli alimenti. Questi comprendono in prima battuta antibiotici, antelmintici, antiparassitari, antinfiammatori e sulfamidici per arrivare ai farmaci oncologici e alle droghe d'abuso. Va detto che le percentuali della loro presenza sono assai variabili, poiché dipendono in larghissima misura da fattori temporali, climatici e geografici difficilmente prevedibili. È necessario comunque sottolineare che questo è solo un aspetto del problema dal momento che spesso non si ha cognizione precisa dei metaboliti cui tali residui possono dar luogo e i cui effetti sull'organismo possono essere anche più dannosi di quelli del composto di partenza. Va inoltre ribadito che allo scopo di proteggere sempre più efficacemente la salute pubblica sulla base delle conoscenze attuali circa la sicurezza dei farmaci, le maggiori organizzazioni internazionali fissano e costantemente aggiornano i limiti massimi consentiti per i residui di un gran numero di queste sostanze negli alimenti. Questa necessità richiede di conseguenza la disponibilità di sistemi analitici in grado di determinare quanto tali norme prescrivono.

lab: Quali strumentazioni vengono utilizzate per rilevarne la presenza e con quali risultati?

SC: La presenza di prodotti medicinali negli alimenti è un fenomeno che ormai suscita preoccupazioni crescenti da parte del ricercatore, del legislatore e dell'uomo della strada e solleva inevitabilmente tutta una serie di problematiche connesse, tra le quali è certamente di primaria importanza un'attendibile determinazione analitica di tali residui e metaboliti che ne accerti l'origine, l'identità e la concentrazione,



Prof. Sergio Caroli, già Dirigente di Ricerca dell'Istituto Superiore di Sanità (ISS), ha fatto parte del personale di ruolo dell'ISS a partire dal 1970. Attualmente è membro del Consiglio direttivo

della Società Italiana di Medicina Farmaceutica (SIMEF), Direttore scientifico della FullCRO, membro del Comitato scientifico della Fondazione onlus Ricerca e Salute, membro del Comitato scientifico della GXP Solutions, membro della Società chimica italiana, consulente per enti pubblici e privati relativamente agli aspetti regolatori di studi preclinici e clinici, auditor per studi clinici di fase 1.



dovunque ciò si renda necessario, e permetta la valutazione del profilo di pericolosità che essi possono avere non solo per la salute dell'uomo, ma anche per quella degli animali e per la protezione dell'ambiente in generale.

Va da sé che una corretta valutazione della contaminazione da residui di farmaci implica la disponibilità di tecniche analitiche potenti, flessibili e convalidate (cioè verificate per la loro idoneità a soddisfare le finalità per cui sono utilizzate) in grado di rivelare, identificare e quantificare la loro presenza anche nelle matrici alimentari più difficili. Deve essere d'altro canto tenuto presente come la complessità di queste indagini richieda lo sviluppo di sempre nuove ricerche, notevoli investimenti di risorse e un'impostazione delle attività regolatorie idonea a risolvere i problemi. Come ampiamente documentato nella letteratura scientifica degli ultimi anni, la cromatografia liquida in tutte le sue diverse realizzazioni, proficuamente combinata in modi svariati con la spettrometria di massa nelle sue varie realizzazioni, costituisce un esempio straordinario della risposta che può essere data a tale sfida. Significativo è anche l'uso di tecniche quali l'elettroforesi nelle sue varie versioni, la spettroscopia Raman, la spettroscopia IR, UV e di fluorescenza, la spettrometria di fluorescenza ai raggi X, la cromatografia su strato sottile ad alte prestazioni e i saggi biochimici, tra cui in particolare l'Elisa.

lab: Quali metodiche sono in studio e sostituiranno quelle utilizzate oggi per determinare con più accuratezza la presenza dei farmaci e dei loro metaboliti?

SC: Le moderne tecniche analitiche consentono

oggi l'ottenimento di informazioni sperimentali attendibili, confrontabili e ricostruibili, permettendo così al legislatore di predisporre adeguati strumenti normativi per monitorare, valutare e minimizzare la presenza di residui di prodotti medicinali e dei loro metaboliti nei più svariati alimenti. Da un punto di vista generale, va certamente notato come il potere di rivelabilità delle tecniche strumentali più sofisticate prima citate stia divenendo sempre più adeguato alle attuali necessità di controllo ed è quindi plausibile pensare che su queste continueranno a concentrarsi gli sforzi dei ricercatori e dei produttori di apparecchiature scientifiche.

lab: Infine, cosa si prevede per il futuro? Vi saranno apparecchiature e metodiche più avanzate o maggiore consapevolezza nell'uso dei farmaci da parte dell'uomo?

SC: Quanto detto finora può essere sufficiente per meglio comprendere la dimensione del problema e per evidenziare come un consapevole comportamento nell'uso dei farmaci da parte del consumatore possa contribuire in modo significativo alla riduzione del rischio che il fenomeno comporta per la salute umana e per l'ambiente.

Questa tendenza si accompagnerà a un crescente potenziamento delle tecniche già oggi disponibili per tenere il passo con le necessità emergenti nel prossimo futuro, fino al punto che la loro capacità di determinare quantità estremamente basse di farmaci e dei loro residui porterà inevitabilmente a porre il quesito se queste siano ancora in grado di avere effetti avversi sulla salute e sia quindi necessario misurarle a tali livelli. •