

Validazione del Nichel in alimenti per animali, additivi e alimenti di origine vegetale; primi risultati

Marco Rizzi

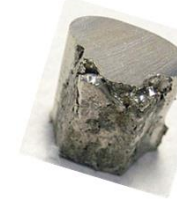
S.S. Contaminanti Ambientali - IZSPLV

**Laboratori Nazionali di Riferimento per Metalli Pesanti negli Alimenti e nei Mangimi e Additivi nei
Mangimi**

VII Workshop - Roma, 6-7 Dicembre 2017

- PIANO NAZIONALE PER IL CONTROLLO UFFICIALE- ADDITIVI ALIMENTARI, all'interno del PNI 2015-2018, si rende necessario la validazione di un metodo di prova per la ricerca di **niche** negli additivi.
- Raccomandazioni comunitarie UE N. 1111/2016 e UE N. 1110/2016 relative alla necessità di monitorare la presenza di **niche** in alimenti e mangimi rende necessaria l'estensione del campo alle matrici oggetto di studio.
- Per i criteri di prestazione del metodo, si decide di applicare quelli previsti dai Regolamenti 333/2007, 836/2011 e 582/2016 relativi ai metodi di campionamento e di analisi di Pb, Cd, Hg e Sn nei prodotti alimentari.
- Poiché il LM più basso previsto per gli additivi alimentari è 1 mg/kg, in base al Reg. UE n. 582/2016 il LOQ deve essere $\leq 0,20$ mg/kg ed il LOD $\leq 0,060$ mg/kg. Si applicano questi LOD e LOQ anche alle altre matrici per le quali attualmente non ci sono limiti massimi.

Perchè il Nichel?



Metallo esistente in natura, presente a volte negli alimenti e nell'acqua per contaminazione dall'ambiente, anche in risultanza di attività umane.

Esposizione a breve termine ('acuta') provoca reazioni allergiche in alcuni individui, sia per contatto sia per ingestione tramite cibi o acqua che lo contengono. Studi sugli animali indicano anche possibili effetti sulla riproduzione e sullo sviluppo derivanti dall'esposizione a lungo termine ('cronica') al Ni.

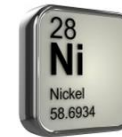
Nell'UE non sono attualmente previsti tenori massimi di Ni negli alimenti. Nell'acqua potabile e nelle acque minerali naturali $< 20 \mu\text{g/L}$.

Nel Febbraio 2015 parere scientifico EFSA sui rischi per la salute umana associati al Ni.

Dose giornaliera tollerabile (DGT) di $2,8 \mu\text{g/Kg}$ di peso corporeo.

L'attuale esposizione alimentare cronica al Ni è motivo di preoccupazione per la popolazione in genere.

Procedura di analisi



- Omogeneizzazione campione



TIPO DI CAMPIONE	GRAMMI
Alimenti secchi	0,5 – 1,0
Alimenti umidi	0,5 – 2,5
Alimenti liquidi	0,5 – 2,5
Materie grasse	0,1 – 0,5

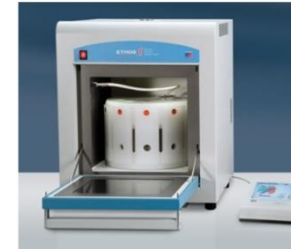
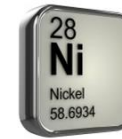


- 7 mL HNO₃ conc. + 1,5 mL di H₂O₂ + 0,7 mL HF



Procedura di analisi

- Mineralizzazione in forno a microonde ad alta pressione



- Volume finale 25 mL

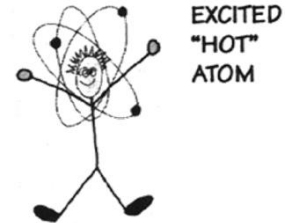


- Analisi mediante Z-ETA-AAS



Parametri strumentali AAS

Misura strumentale	Assorbanza
Metodo di taratura	Metodo delle aggiunte
Modo di misura	Area del picco
Fenditura	0,2 nm
Lunghezza d'onda	232,0 nm
Tempo di misura durante l'atomizzazione	5 s
Repliche	2
Modificatore di matrice	0,0025 mg di Mg(NO3)2



Stadio N.	T (°C)	Rampa (°C/s)	Isoterma	Flusso gas (mLmin)
1	65	2	20	250 Ar
2	95	2	25	250 Ar
3	100	5	25	250 Ar
4	120	5	20	250 Ar
5	450	20	20	250 Ar
6	1000	200	10	250 Ar
7	1000	0	6	0
8	2250	1500	5	0
9	2450	500	4	250 Ar



Validazione del metodo

SPECIFICITA'	Valutazione del segnale su 20 bianchi reagenti
LOD-LOQ	Valutazione del segnale di 20 bianchi reagenti, calcolo del LOD e del LOQ. Criteri di accettabilità: LOD \leq 0,060 mg/kg LOQ \leq 0,20 mg/kg (come da Reg.582/2016)
CAMPIONE BIANCO	Effettuare 6 prove su un campione bianco da utilizzare per le positivizzazioni.
RECUPERO	Effettuare 6 prove ai livelli: LOQ, 1 mg/kg , 2 mg/kg, 50 mg/kg, 200 mg/kg e, per la verifica del campo di misura, a 400 mg/kg e calcolare il recupero percentuale medio e lo scarto tipo. Criteri di accettabilità: recupero 80÷120%
RIPETIBILITA'	Sulle prove effettuate per il recupero eseguire il calcolo dell'HORRAT. Criteri di accettabilità: HORRAT < 2
STABILITÀ	Verifica della stabilità delle soluzioni standard contenenti nichel per tre mesi. Criteri di accettabilità: variaz .max 10%
INCERTEZZA DI MISURA	Calcolo incertezza di misura con il metodo di HORWITZ

Specificità, LOD-LOQ

Validazione del metodo

MATRICE	CONC. ANALITA mg/Kg	MEDIA CONC. ANALITA mg/Kg	SCARTO TIPO CONC. ANALITA s mg/Kg	LOD mg/Kg (LOD=3s)	LOQ mg/Kg (LOQ=10s)
BIANCO REAGENTI1	0,035	0,0185	0,0180	0,054	0,18
BIANCO REAGENTI2	0,034				
BIANCO REAGENTI3	0,053				
BIANCO REAGENTI4	0,016				
BIANCO REAGENTI5	0,019				
BIANCO REAGENTI6	0				
BIANCO REAGENTI7	0				
BIANCO REAGENTI8	0,06				
BIANCO REAGENTI9	0,027				
BIANCO REAGENTI10	0,033				
BIANCO REAGENTI11	0				
BIANCO REAGENTI12	0,007				
BIANCO REAGENTI13	0,02				
BIANCO REAGENTI14	0				
BIANCO REAGENTI15	0,023				
BIANCO REAGENTI16	0				
BIANCO REAGENTI17	0,02				
BIANCO REAGENTI18	0,019				
BIANCO REAGENTI19	0				
BIANCO REAGENTI20	0,003				

Validazione del metodo

Recupero

LIVELL °	MATRICE	CONC.ANALIT A TEORICA mg/Kg	CONC. CAMPIONE BIANCO mg/kg	REC, MEDIO LIVELLO %	SCARTO TIPO REC. LIVELLO %
1°	RICE GBW10010	0,27	-	103,1	10,1
2°	TOMATO LEAVES SRM1573A	1,59	-	98,5	9,5
3°	TEA LEAVES INCT-TL-1	6,12	-	106,2	6,9
4°	AC.CITRICO POSITIVIZ.	50	0,14	97,4	7,0
5°	AC.CITRICO POSITIVIZ.	200	0,14	97,9	4,8
6°	FRUTTOSIO POSITIVIZ.	400	0,05	91,7	3,0

Ripetibilità

Validazione del metodo

Livello	Conc,Media Livello mg/Kg	Scarto tipo mg/Kg	RSD %	Horrat _r mg/Kg	ripetibilità r=2,8×scarto tipo mg/Kg
1°	0,28	0,0271	9,75	0,77	0,076
2°	1,6	0,1506	9,61	0,98	0,42
3°	6,5	0,4195	6,45	0,82	1,2
4°	48	2,8577	5,93	1,01	8
5°	194	8,1158	4,19	0,88	23
6°	365	13,5006	3,70	0,85	38

HORRAT < 2



La funzione di Horwitz è stata calcolata come indicato nel Reg. CE 333/2007 (M. Thompson, Analyst, 200,125, 385-386) e nel Reg. 836/2011

$$\text{Reg. 836/2011} \quad RSD_R = \begin{cases} 22\% & \text{se } c < 1,2 \times 10^{-7} \\ 2c^{-0,15} & \text{se } 1,2 \times 10^{-7} \leq c \leq 0,138 \\ \text{non_indicato} & \text{se } c > 0,138 \end{cases}$$

$$\text{Reg. CE 333/2007} \quad \sigma_R = \begin{cases} 0,01c^{0,5} & \text{se } c > 0,138 \end{cases}$$

$$\text{HORRAT}_r = \frac{RSD_r \text{ osservato}}{RSD_r \text{ calcolato (r=0,66xR)}}$$

Stabilità

Validazione del metodo

DATA PREPARAZIONE	CONC.	DATA ANALISI	SEGNALE ANALITA Abs	SEGNALE RESIDUO %
01/09/2016	0,5 mg/L	02/09/2016	0,09003	100
		06/09/2016	0,09931	110
		08/09/2016	0,09292	103
		12/09/2016	0,09302	103
		27/09/2016	0,09175	102
		10/10/2016	0,08165	91
		11/10/2016	0,09361	104
		12/10/2016	0,08763	97
		27/10/2016	0,09318	103
		28/10/2016	0,08914	99
		23/11/2016	0,09080	101



Incertezza di misura

LIVELLO	CONC.ANALITA mg/Kg	CONC.ANALITA FRAZIONE DI MASSA	RSD _R HORWITS %	K	INCERTEZZA ESTESA (U) %
1°	0,28	0,00000028	19,23	2,00	38
2°	1,6	0,0000016	14,81	2,00	30
3°	6,5	0,0000065	12,00	2,00	24
4°	48	0,0000465	8,93	2,00	18
5°	194	0,000194	7,21	2,00	14
6°	365	0,000365	6,56	2,00	13

38 %

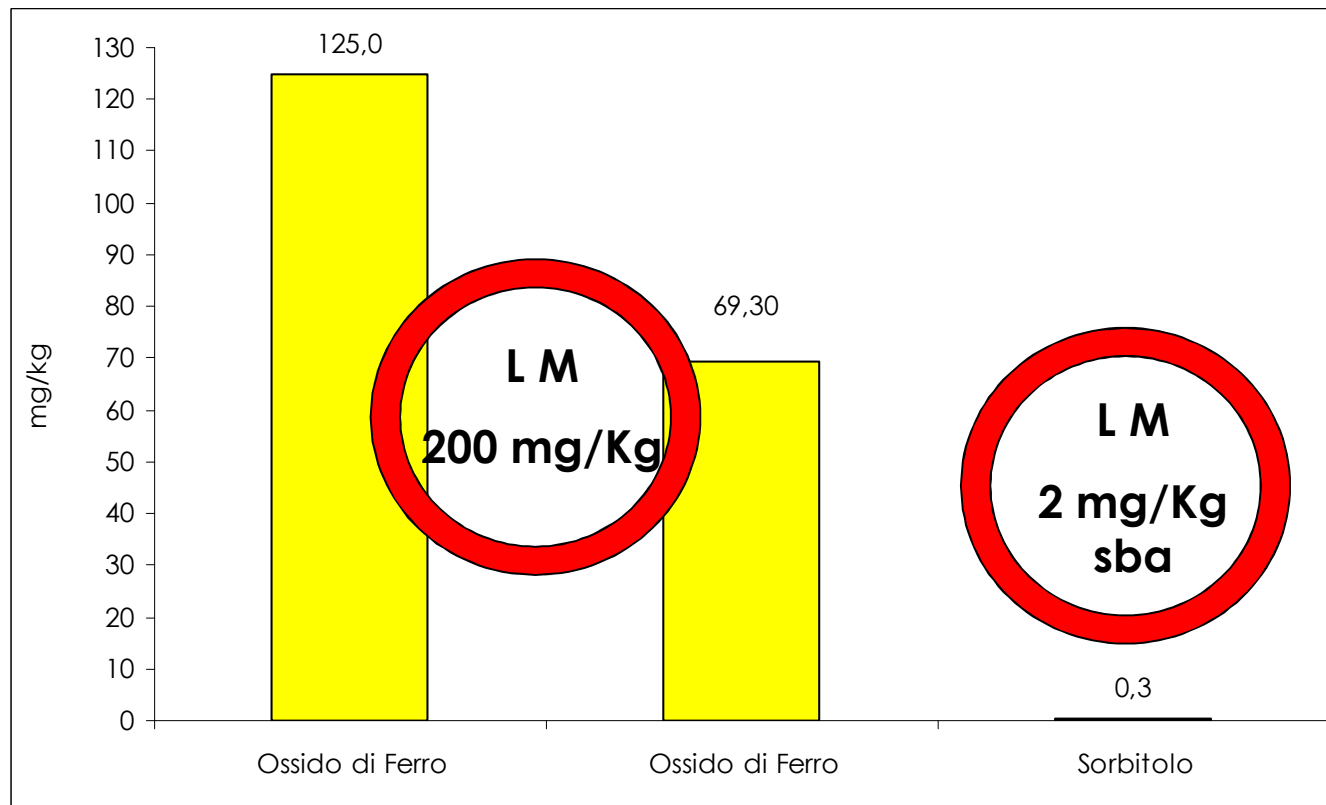
24 %

La funzione di Horwitz è stata calcolata come indicato nel Reg. CE 333/2007 (M. Thompson, Analyst, 200,125, 385-386) e nel Reg. 836/2011

Risultati (Marzo 2016 – Ottobre 2017)



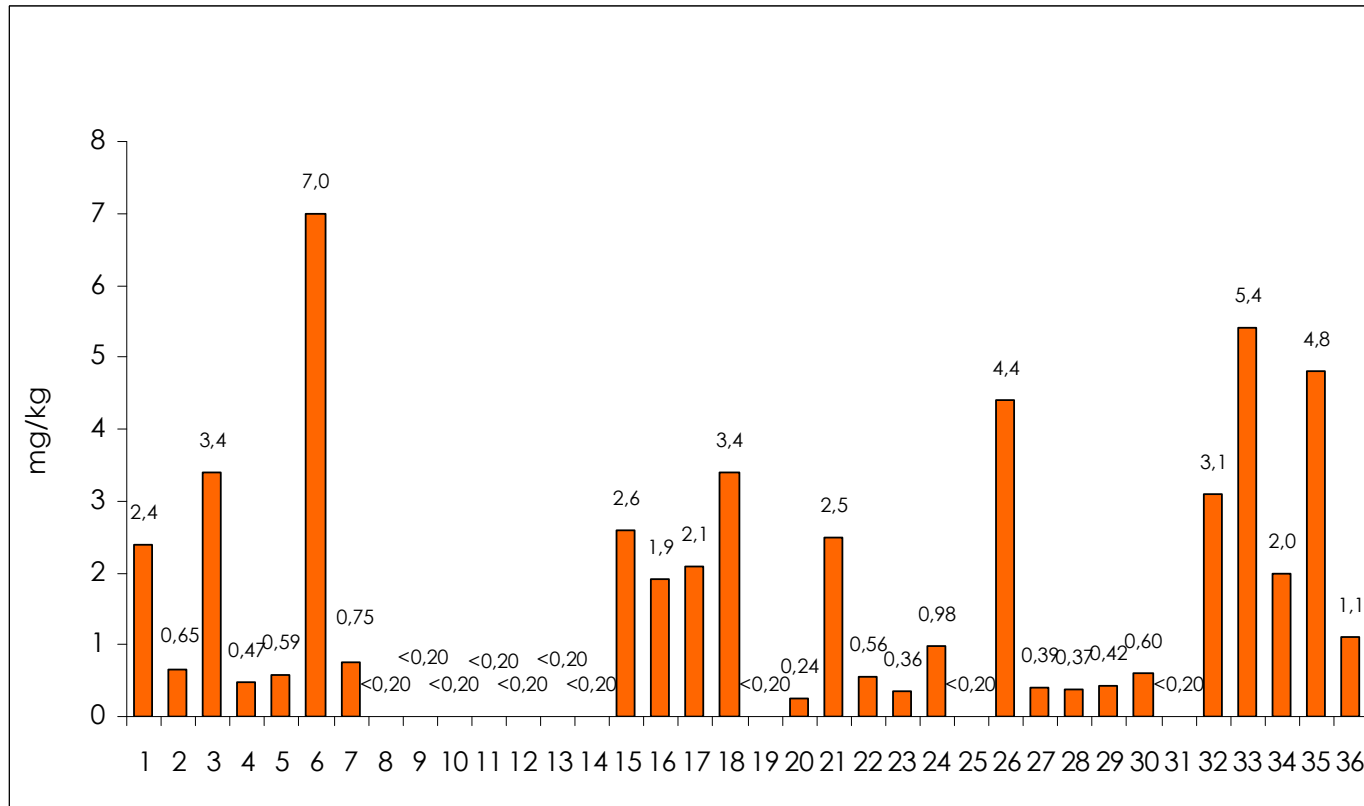
Additivi Alimentari



Risultati (Marzo 2016 – Ottobre 2017)



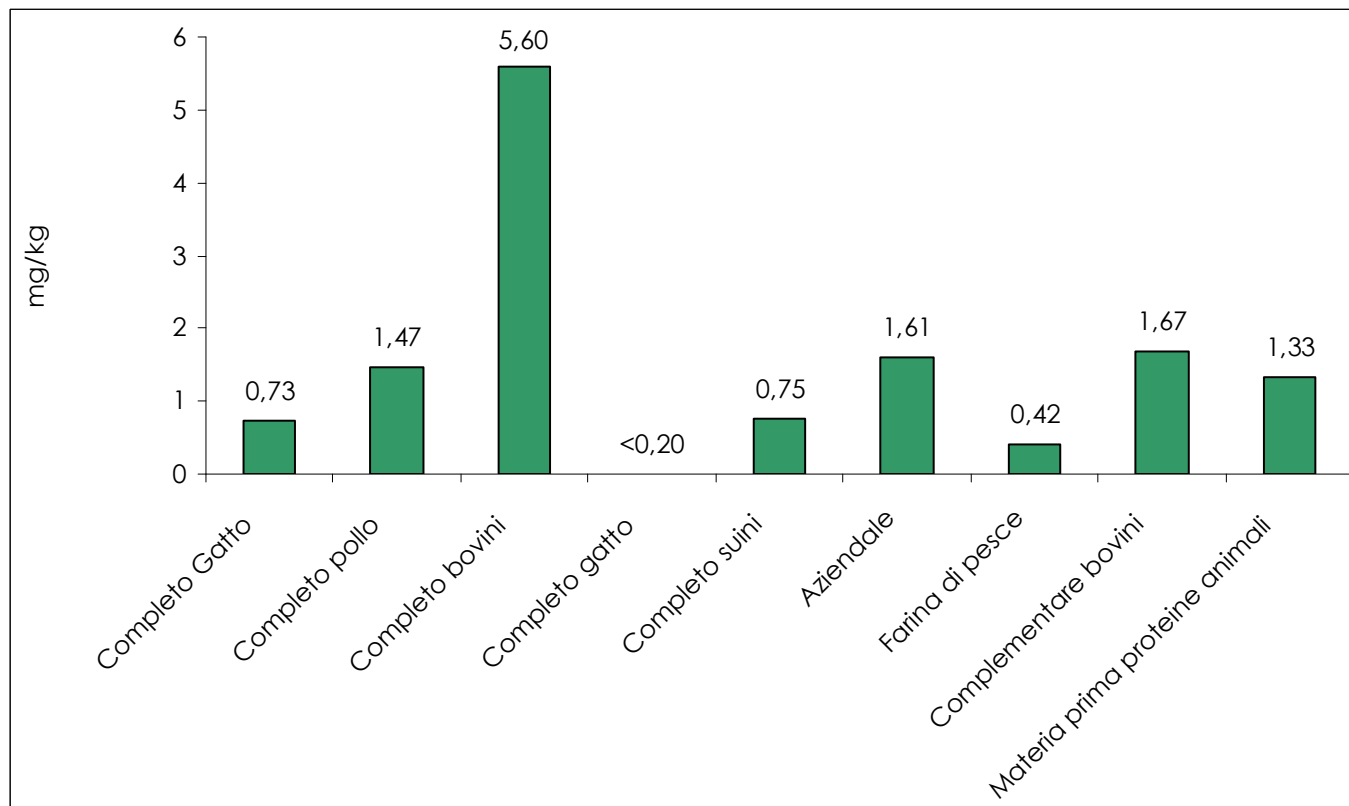
Integratori Alimentari



Risultati (Marzo 2016 – Ottobre 2017)



Mangimi



Risultati (Marzo 2016 – Ottobre 2017)

➤ Alimenti per la prima infanzia



ALIMENTO PRIMA INFANZIA	<0,2 mg/kg (LOQ)
CREMA MULTICEREALI SVEZZAMENTO	<0,2 mg/kg (LOQ)
ALIMENTO PRIMA INFANZIA	<0,2 mg/kg (LOQ)

➤ Prodotti di panetteria



CRACKERS	<0,2 mg/kg (LOQ)
----------	------------------

➤ Bevande



ENERGY DRINK	<0,2 mg/kg (LOQ)
SUCCO DI MIRTILLO	<0,2 mg/kg (LOQ)

Conclusioni

- Il nichel, naturalmente presente nell'ambiente, è stato riscontrato fino a livelli di 7 mg/Kg negli integratori alimentari e a 5,6 mg/Kg nei mangimi.
- Le raccomandazioni comunitarie ne prevedono la ricerca anche in alimenti per la prima infanzia, i pochi campioni pervenuti sono risultati inferiori al LOQ.
- Il CReAA nel corso del 2018 estenderà la validazione anche agli alimenti di origine animale (latte) ed effettuerà una ricerca corrente



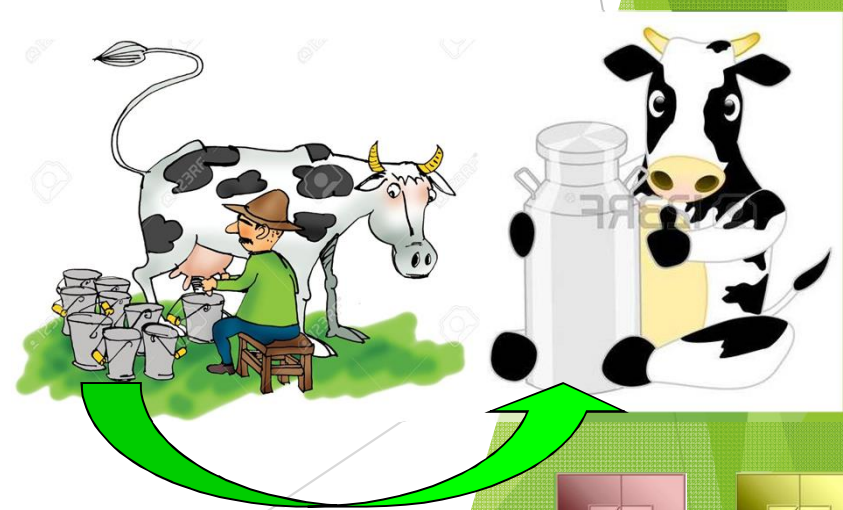
Conclusioni

Il nichel nella filiera zootecnica? Prima ricognizione nazionale sul territorio piemontese

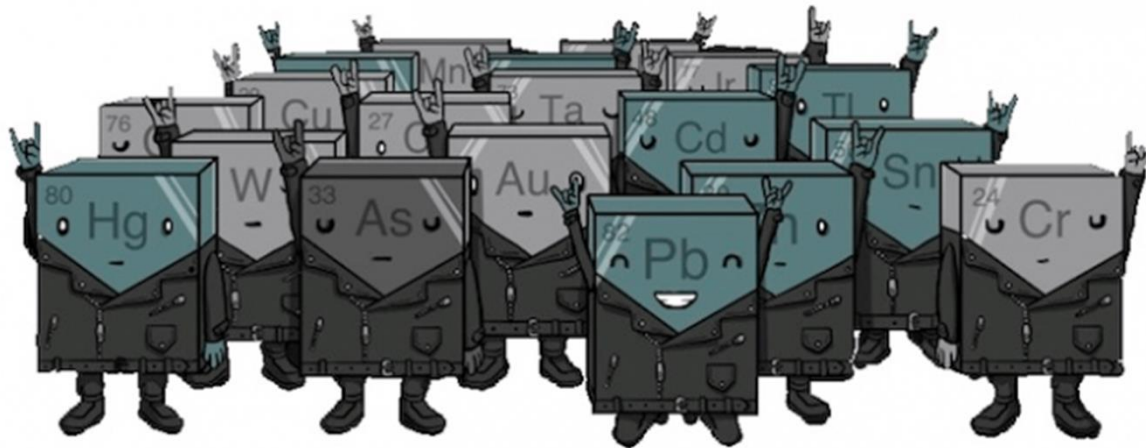
Determinazione di eventuali fenomeni di "carry-over" del Ni dai mangimi ai prodotti alimentari di origine animale.

Obiettivo da perseguire per colmare la mancanza di dati denunciata nelle opinion citate.

E' inoltre necessario chiarire se il Ni presente nel latte provenga principalmente dai mangimi o se sia trasferito al latte in fase di mungitura o successivamente, a causa del rilascio di Ni da raccoglitori in acciaio inox.



Grazie per l'attenzione



marco.rizzi@izsto.it