

COME SI RICERCANO I BTEX NEGLI ALIMENTI

La ricerca di benzene, toluene, etilbenzene e xileni (BTEX) richiede particolari precauzioni: queste sostanze tendono a passare dalla matrice alimentare all'aria e possono quindi andare perdute prima ancora di arrivare allo strumento. Un risultato attendibile dipende non soltanto dalla sensibilità del laboratorio, ma dall'intera catena che va dal prelievo del campione alla sua interpretazione.

PERCHÉ I COMPOSTI VOLATILI RICHIEDONO UN METODO SPECIFICO

I BTEX sono molecole relativamente piccole e volatili. Quando una confezione viene aperta, il prodotto viene mescolato o scaldato, una parte delle sostanze eventualmente presenti può trasferirsi nella fase gassosa. La velocità dipende dalla temperatura, dal tempo di esposizione all'aria, dalla superficie del prodotto e dalla sua composizione. Acqua, grassi, proteine e altri componenti possono modificare la distribuzione della sostanza fra alimento e aria.

Di conseguenza, un'analisi affidabile non consiste semplicemente nel “mettere un campione in macchina”. Occorre una procedura convalidata per la matrice e per i singoli composti ricercati. Un metodo che funziona bene per l'acqua non è automaticamente equivalente quando viene applicato a olio, latte, farine o prodotti molto grassi.

IL PRELIEVO: IL PRIMO PUNTO CRITICO

Un campione può alterarsi se viene travasato ripetutamente, lasciato in un contenitore aperto o conservato a temperatura inappropriata. In generale si impiegano contenitori a tenuta, materiali compatibili con gli analiti e procedure che limitino la dispersione. Per i campioni acquosi destinati alla determinazione dei composti volatili può essere importante ridurre al minimo lo spazio d'aria nel contenitore; per altre matrici e metodiche possono essere richieste modalità differenti. Non esiste pertanto una regola unica valida per tutti gli alimenti.

È inoltre necessario evitare contaminazioni esterne: vapori di carburanti, solventi utilizzati durante il campionamento, ambienti non idonei, guanti e materiali di confezionamento possono introdurre sostanze che non appartenevano originariamente al prodotto. Quando il livello ricercato è molto basso, il controllo dei bianchi di campionamento e di laboratorio diventa particolarmente importante.

Il laboratorio deve conoscere origine, tipo di alimento, confezione, data di prelievo, condizioni di trasporto e tempi di conservazione. La catena di custodia documenta

questi passaggi. Temperatura di trasporto e durata massima prima dell'analisi vanno stabilite in base al metodo adottato e alla sua validazione, non fissate arbitrariamente.

LA TECNICA DELLO SPAZIO DI TESTA O HEADSPACE

Una soluzione molto utilizzata è l'analisi dello "spazio di testa" (headspace): una quantità definita di campione viene collocata in un flaconcino ermetico e portata a condizioni controllate. Una parte dei composti volatili si distribuisce nel gas sopra il campione; tale frazione viene poi introdotta nel sistema analitico. La chiusura del contenitore e la riproducibilità di temperatura e tempi sono essenziali.

Nell'headspace statico si preleva una parte della fase gassosa dopo un periodo di equilibrio. Tecniche alternative comprendono il purge-and-trap, che trascina i composti volatili con un flusso di gas e li concentra su un materiale adsorbente, e la microestrazione in fase solida (SPME), che li raccoglie su una fibra. La scelta dipende dagli analiti, dalla matrice e dalle prestazioni richieste. Nessuna tecnica è universalmente migliore per ogni alimento.

LA GASCROMATOGRAFIA E LA SPETTROMETRIA DI MASSA

Dopo l'estrazione, i composti vengono spesso separati mediante gascromatografia (GC). Attraversando una colonna capillare, le diverse molecole escono in tempi differenti. La spettrometria di massa (MS) permette di ottenere segnali caratteristici utili per l'identificazione e la quantificazione. Da qui la sigla HS-GC-MS, indicativa dell'accoppiamento fra spazio di testa, gascromatografia e spettrometria di massa.

Un picco cromatografico non costituisce, da solo, prova sufficiente della presenza di benzene: il laboratorio deve applicare criteri di identificazione adeguati, controllare possibili interferenze ed eseguire una calibrazione appropriata. L'impiego di standard interni isotopicamente marcati può compensare parte delle variabilità legate alla preparazione e alla risposta strumentale. Un metodo FDA per il benzene nelle bevande utilizza, per esempio, benzene marcato con deuterio e HS-GC-MS.



LA MATRICE ALIMENTARE PUÒ MODIFICARE IL RISULTATO

Due prodotti che contengono la stessa quantità di un composto volatile non rilasciano necessariamente la stessa quantità nella fase gassosa durante l'analisi. Salinità, contenuto lipidico, zuccheri e struttura fisica influenzano l'equilibrio fra le fasi. È il cosiddetto effetto matrice, che deve essere considerato attraverso calibrazioni e prove di recupero appropriate.

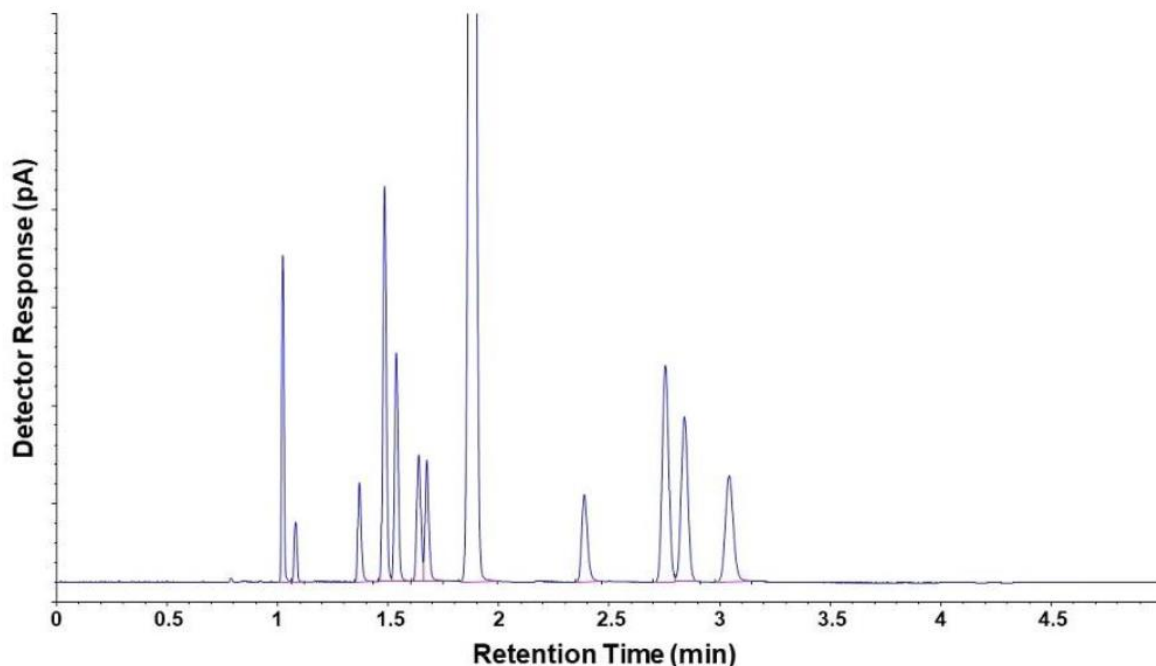
I laboratori verificano parametri come selettività, linearità, ripetibilità, recupero, precisione e robustezza. L'accuratezza su una bevanda limpida non dimostra automaticamente la qualità della misura su una crema o su una matrice oleosa. Per questo i risultati devono essere associati all'ambito di applicazione effettivamente validato del metodo.

LOD E LOQ: CHE COSA SIGNIFICA “NON RILEVATO”

Il limite di rilevazione (LOD) è il livello al quale, secondo criteri definiti dal metodo, si può distinguere un segnale dalla variabilità del fondo. Il limite di quantificazione (LOQ) è il livello minimo al quale il laboratorio può fornire una misura quantitativa con prestazioni adeguate. I due valori non sono intercambiabili e possono cambiare secondo composto, matrice, preparazione e strumento.

Un referto “inferiore al LOQ” non significa che il composto sia assente: significa che non può essere quantificato in modo affidabile al di sotto di quella soglia con il metodo utilizzato. Anche “non rilevato” richiede cautela e va interpretato rispetto al limite di rilevazione dichiarato. Senza conoscere il LOQ non è possibile confrontare in modo serio due risultati entrambi indicati come “non quantificabili”.

Per esempio, se due laboratori riportano entrambi “benzene < LOQ” ma uno ha un LOQ di 1 µg/kg e l'altro di 10 µg/kg, i risultati non forniscono la medesima informazione analitica. Questi numeri sono soltanto un esempio esplicativo, non soglie normative per gli alimenti.



CONTROLLI DI QUALITÀ E INCERTEZZA DELLA MISURA

Ogni serie analitica dovrebbe includere controlli coerenti con lo scopo dell'esame: bianchi, standard di calibrazione, campioni fortificati e controlli di qualità. I bianchi

aiutano a individuare contaminazioni provenienti da reagenti, contenitori e ambiente. Le prove di recupero mostrano quanta parte di una quantità nota aggiunta alla matrice viene effettivamente misurata. La ripetizione di misure contribuisce a stimare la variabilità.

Quando si riporta una concentrazione, il dato deve essere accompagnato da unità corrette e, secondo il contesto d'uso, dall'incertezza di misura. Per i liquidi si possono usare µg/L, per gli alimenti solidi o semisolidi µg/kg: per passare dall'una all'altra unità occorre tenere conto della densità e non basta sostituire la sigla. L'incertezza non rappresenta un errore grossolano, ma la dispersione plausibile dei valori attribuibili al misurando.

METODI PUBBLICATI, STANDARD E VALIDAZIONE

Esistono riferimenti tecnici autorevoli. La norma ISO 20595:2018 descrive l'analisi di composti organici molto volatili nelle acque mediante headspace statico e GC-MS. È un riferimento pertinente alle matrici acquose previste nel suo campo di applicazione, non una validazione generale per tutti gli alimenti. Il metodo EPA 8260D descrive l'analisi GC-MS di composti organici volatili in diverse matrici ambientali e contempla più modalità di introduzione del campione, ma non sostituisce di per sé una validazione alimentare.

Per le bevande, la FDA ha pubblicato un metodo specifico per il benzene basato su HS-GC-MS e diluizione isotopica. La disponibilità di un metodo pubblicato non significa che qualunque laboratorio lo esegua con le stesse prestazioni: conta l'applicazione effettiva, la competenza tecnica e, quando pertinente, l'accreditamento della prova per lo specifico ambito.

COME LEGGERE CORRETTAMENTE UN RAPPORTO DI PROVA

Per comprendere davvero un'analisi dei BTEX occorre almeno sapere: quale sostanza sia stata ricercata (per gli xileni, eventualmente quali isomeri o quale somma); quale matrice sia stata analizzata; con quale tecnica e metodo; quali siano le unità; quali LOD e LOQ si applichino; come sia espressa l'incertezza, quando pertinente; se la procedura rientri nel campo di accreditamento del laboratorio.

Infine, trovare una sostanza non equivale automaticamente a dimostrare un rischio per la salute, così come non quantificarla non certifica un'assenza assoluta. L'interpretazione sanitaria richiede dati sulle concentrazioni effettive, sul consumo e sulla tossicologia; l'eventuale conformità normativa richiede invece di identificare una disposizione applicabile proprio a quella sostanza e a quella matrice. Sono valutazioni diverse dalla sola qualità analitica.

CONCLUSIONE

Nella ricerca dei BTEX la sensibilità dello strumento è soltanto uno degli elementi decisivi. Prelievo, trasporto, preparazione, controllo delle perdite, calibrazione, validazione e trasparenza del referto determinano insieme l'affidabilità del dato. Il buon risultato analitico non è necessariamente quello più basso, ma quello ottenuto con un metodo adeguato e descritto in modo comprensibile e verificabile.

RIFERIMENTI SCIENTIFICI E TECNICI

- [1. U.S. FDA \(2006\). Determination of Benzene in Soft Drinks and Other Beverages.](#)
- [2. ISO \(2018\). ISO 20595:2018 – Water quality: determination of selected highly volatile organic compounds in water by HS-GC-MS.](#)
- [3. U.S. EPA \(2017\). SW-846 Method 8260D: Volatile Organic Compounds by Gas Chromatography/Mass Spectrometry.](#)
- [4. Regolamento \(UE\) 2017/625 relativo ai controlli ufficiali nella filiera agroalimentare \(contesto generale; non prescrive uno specifico metodo BTEX per tutti gli alimenti\).](#)