

Gianluca Bartolucci⁴, Fabio Villanelli¹, Eligio Sebastiani¹, Luca Calamai^{2,3}

¹ SRA Instruments S.p.A., Viale Assunta 101, 20063 Cernusco sul Naviglio (MI), Italia. E-mail: info@srainstruments.com

² Dipartimento di Scienza del Suolo e Nutrizione della Pianta – Università degli Studi di Firenze

³ Centro Interdipartimentale di Spettrometria di Massa - Università degli Studi di Firenze, Via Ugo Schiff 6, 50019 Sesto Fiorentino (FI)

⁴ Dipartimento di Scienze Farmaceutiche - Università degli Studi di Firenze, Via Ugo Schiff 6, 50019 Sesto Fiorentino (FI)

Introduzione

L'industria del pesce cerca continuamente di sviluppare nuove tecnologie in grado di estendere il tempo di conservazione del prodotto senza alterarne le caratteristiche nutrizionali e organolettiche. Questo è ostacolato da due fattori principali: l'effetto dell'ossigeno atmosferico e la crescita di microrganismi. Ciò si traduce in cambiamenti in odore, sapore colore e consistenza, con un complessivo deterioramento della qualità. Una strada per rallentare questi fenomeni in particolare durante il confezionamento viene percorsa attraverso due vie: il vuoto e l'atmosfera modificata (Modified Atmosphere Packaging, MAP) (Belcher, 2006). Nel Stati Uniti la carne e il pesce vengono comunemente trattati con CO (Martínez, Djenane, Cilla, Beltrán, & Roncalés, 2005; Stetzer, Wicklund, Paulson, Tucker, Macfarlane, & Brewer, 2007, al fine di preservarne il colore rosso per lunghi periodi, grazie al legame molto stabile che forma con la mioglobina nei muscoli, che impedisce anche la degradazione della mioglobina stessa. Questo aspetto però può essere usato per trarre in inganno il consumatore sulla conservazione del prodotto, sebbene questo non crei un problema per la salute, tranne che per alcune specie le cui carni sono ricche di istidina, che può in queste condizioni andare incontro a decarbossilazione ossidativa e trasformarsi in istamina. Il trattamento con CO è ammesso in USA e Olanda (Schubring, 2008), ma non dalla Comunità Europea che non include la CO nella lista di additivi consentiti (Directive 95/2/EC). Scopo di questo lavoro è sviluppare un metodo, robusto, routinario e automatizzato in HS-GC-MS per misurare la concentrazione di CO in campioni trattati e non di tonno.

Materiali e metodi

GC Agilent Technologies mod. 7890N

Iniettore: CIS 4, in PTV mode, raffreddamento con CO₂

Temperatura iniettore: -10°C per 1 min

12 °C/sec fino a 150° C per 8.8 min

Volume iniettato: 1mL a temperatura ambiente

Colonna: HP Molesieve 30m x 0.320 I.D. x 12 µm

Flusso 3mL/min

Forno colonne: 40 °C per 4 min

30 °C/min fino a 200° C per 0 min

Software: MSD Agilent Chemstation e Gerstel Maestro

MSD Agilent Technologies mod. 5975 C

Temperatura della Transfer line: 280°C

Temperatura sorgente: 200°C

Acquisition mode: SIM su m/z 28, 32, 44

Dwell time: 100 msec

Autocampionatore

Gerstel MPS2 Autosampler, iniezione HS

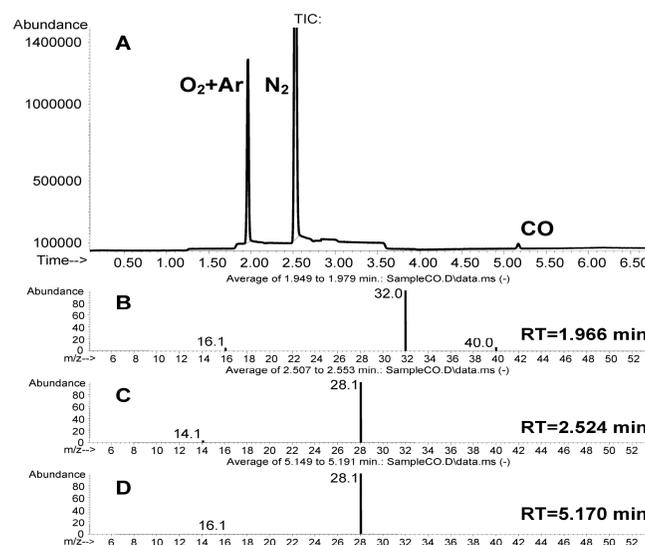
Software: Gerstel Maestro

Fase sperimentale

Come previsto dal metodo ufficiale i campioni sono stati pesati, digeriti con H₂SO₄ e effettuata l'analisi sullo spazio di testa. Il metodo originale prevedeva condizioni di iniezione e colonna diversi, rendendo però meno robusto il metodo, introducendo grandi quantità di acqua in colonna. L'uso del PTV a -10°C permette di bloccare l'acqua nella porta di iniezione, congelandola e introducendo in colonna solo le molecole a questa temperatura ancora volatili.



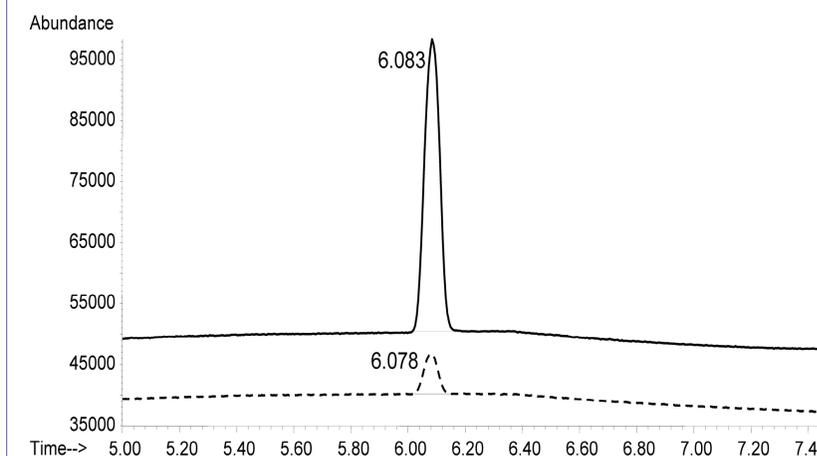
Il tracciato mostra ben separati i picchi relativi all'ossigeno, azoto e CO, con riportato sotto lo spettro di massa.



Come si vede il picco della CO è ben separato dall'azoto, che presenta lo stesso spettro di massa, ma con più di due minuti di differenza nel tempo di ritenzione. In questo tracciato non si vede la CO₂ perché resta intrappolata in colonna in queste condizioni ed il suo accumulo riduce progressivamente il tempo di ritenzione della CO avvicinandolo all'azoto. Il produttore consiglia di ripulire la colonna alzando la temperatura. Per questo motivo il metodo da noi sviluppato prevede per ogni campione una rampa a 150°, rispetto all'originale, completamente in isoterma a 60°C.

Campioni reali

Sotto vengono riportati i tracciati relativi ad un campione trattato (linea intera) e ad un campione non trattato (linea tratteggiata). Come si vede i campioni trattati sono ben distinguibili da quelli naturali, all'interno dei quali una certa quantità di CO "di fondo" risulta comunque presente. Questo potrebbe essere messo in relazione con la procedura di digestione del campione con acido solforico.



L'utilizzo della isoterma a 200°C consente di ricondizionare la colonna, eliminando l'acqua e la CO₂ accumulate e mantenerla in condizioni operative ottimali, anche per batch con alto numero di campioni, con un'alta riproducibilità nei tempi di ritenzione corsa dopo corsa.

Conclusioni

La semplicità di uso del metodo proposto e le implementazioni in esso contenute, rispetto alla versione precedentemente proposta in USA, consente di processare un alto numero di campioni, senza perdita delle performances cromatografiche.

Bibliografia

High throughput, headspace GC-MS quantitative method to measure the amount of carbon monoxide-treated tuna fish, Bartolucci et al. Journal of Mass Spectrometry in press