

DALLA TERRA ALLA TAVOLA CON I MICROELEMENTI: LA TRACCIABILITÀ ANALITICA DEL TARTUFO BIANCO.

Sommario: **1. Introduzione** – **2. I microelementi nelle piante e negli alimenti di origine vegetale** – **3. Autenticazione, tracciabilità e il *Tuber magnatum* Pico** – **4. Valutazioni conclusive.**

1. Introduzione.

Il *Tuber magnatum* Pico o tartufo bianco è uno degli alimenti più noti e pregiati al mondo, oltre che tra i più costosi¹.

Nonostante questa specie sia diffusa in varie regioni italiane, oltre che nei Balcani, in Francia sudorientale, in Svizzera e in Ungheria, è universalmente noto che il tartufo bianco d'Alba, raccolto nel Monferrato, nelle Langhe e nel basso Piemonte, è considerato in assoluto il migliore: la quotazione per il 2020, benché annata non tra le migliori, variava comunque tra 275 e 300 euro/hg².

Questi prezzi, e il valore aggiunto che il marchio riversa sul territorio, sono attrattive formidabili per chi vuole frodare i clienti e infatti il tartufo bianco d'Alba è anche da annoverare tra gli alimenti più contraffatti al mondo, per quanto non ci siano prove concrete di ciò perché, molto semplicemente, non sono previsti test diagnostici per la verifica della sua provenienza geografica.

Eppure, non sarebbe difficile: il tartufo, come e più degli altri prodotti ortofrutticoli, ha tutte le caratteristiche per essere sottoposto con successo a verifiche analitiche dell'origine, come verrà dettagliato meglio in seguito.

¹<https://quifinanza.it/varie/foto/i-10-cibi-piu-costosi-al-mondo-due-di-questi-sono-italiani/3124/attachment/il-tartufo-bianco-di-alba/>

² <https://www.tuber.it/borsino-del-tartufo>

Attualmente non ci sono strumenti tecnici previsti da normative cogenti per combattere la contraffazione in questo campo.

D'altronde potrebbe sembrare anomalo ricorrere ad analisi con sofisticati strumenti in un mondo in cui la maggior parte delle transazioni economiche si regolano con una stretta di mano.

Nondimeno, la ricerca scientifica negli ultimi anni ha messo a disposizione potenti mezzi diagnostici da usare per combattere la contraffazione: il naso elettronico che riconosce la distribuzione degli aromi³, l'analisi del DNA che permette di identificare le eventuali aggiunte di materiale di altre specie mediante l'identificazione dei genomi presenti⁴, alcune tecniche spettroscopiche quali la spettrofotometria nel vicino infrarosso⁵, l'analisi degli isotopi stabili che sfrutta la marcatura isotopica di carbonio, idrogeno e ossigeno⁶, la determinazione di specifiche classi di composti chimici quali gli aromi⁷ e gli steroli⁸.

Prospettive promettenti emergono anche dall'analisi elementare e in particolare dall'uso dei microelementi come descrittori chimici per cercare il legame tra il tartufo e il territorio di provenienza.

³ G. PENNAZZA - C. FANALI - M. SANTONICO - L. DUGO - L. CUCCHIARINI - M. DACHA - A. D'AMICO - R. COSTA - P. DUGO - L. MONDELLO, *Electronic nose and GC-MS analysis of volatile compounds in Tuber magnatum Pico: Evaluation of different storage conditions*, in *Food Chem.*, 2013, 136, 668-674, DOI: 10.1016/j.foodchem.2012.08.086.

⁴ R. RIZZELLO - E. ZAMPIERI - A. VIZZINI - A. AUTINO - M. CRESTI - P. BONFANTE - A. MELLO, *Authentication of prized white and black truffles in processed products using quantitative real-time PCR*, in *Food Res. Int.*, 2012, 48, pp. 792-797, DOI: 10.1016/j.foodres.2012.06.019; S. SCHELM - M. SIEMT - J. PFEIFFER - C. LANG - H. V. TICHY - M. FISCHER, *Food Authentication: Identification and Quantitation of Different Tuber Species via Capillary Gel Electrophoresis and Real-Time PCR*, in *Foods*, 2020, 9, 501, DOI: 10.3390/foods9040501.

⁵ T. SEGELKE - S. SCHELM - C. AHLERS - M. FISCHER, *Food Authentication: Truffle (Tuber spp.) Species Differentiation by FT-NIR and Chemometrics*, in *Foods*, 2020, 9, 922, DOI: 10.3390/foods9070922.

⁶ S. KRAUSS - W. VETTER, *Geographical and Species Differentiation of Truffles (Tuber spp.) by Means of Stable Isotope Ratio Analysis of Light Elements (H, C, and N)*, in *J. Agric. Food Chem.*, 2020, 68, 14386-14392, DOI: 10.1021/acs.jafc.0c01051.

⁷ D. SCIARRONE - A. SCHEPIS - M. ZOCCALI - P. DONATO - F. VITA - D. CRETI - A. ALPI - L. MONDELLO, *Multidimensional Gas Chromatography Coupled to Combustion-Isotope Ratio Mass Spectrometry/Quadrupole MS with a Low-Bleed Ionic Liquid Secondary Column for the Authentication of Truffles and Products Containing Truffle*, in *Anal. Chem.*, 2018, 90, 6610-6617, DOI: 10.1021/acs.analchem.8b00386.

⁸ K. SOMMER - S. KRAUSS - W. VETTER, *Differentiation of European and Chinese Truffle (Tuber sp.) Species by Means of Sterol Fingerprints*, in *J. Agric. Food Chem.*, 2020, 68, 14393-14401, DOI: 10.1021/acs.jafc.0c06011.

Tale approccio è stato proposto in alcuni recenti studi scientifici⁹.

Perché i microelementi dovrebbero aiutare a riconoscere la provenienza geografica del tartufo?

Per capirne di più è necessario considerare l'interazione tra il terreno e gli organismi che svolgono il loro metabolismo su di esso e più in generale tra il terreno e gli alimenti che ivi si originano, come sarà descritto nel paragrafo seguente.

2. I microelementi nelle piante e negli alimenti di origine vegetale

Ogni alimento di origine vegetale deve la sua produzione all'interazione che le piante di origine hanno con il terreno di crescita.

Le piante, infatti, traggono le sostanze minerali indispensabili per il loro metabolismo dalla terra su cui crescono, trasportate dall'acqua.

Esse hanno bisogno di un ampio corredo di elementi chimici, quali ferro, manganese, rame, ecc. che svolgono varie funzioni importanti quando presenti in concentrazioni opportune.

Al tempo stesso, molte di esse sono in grado di evitare che elementi chimici quali i metalli pesanti piombo, mercurio e cadmio, possano creare danni al loro metabolismo, per quanto esistano specie vegetali capaci di accumulare questi metalli, utilizzate per i processi di bonifica mediati dalle piante (fitorisanamento).

Il primo gruppo è quello degli elementi essenziali o *nutrienti*: essi sono assorbiti attivamente dalle piante.

Il secondo gruppo è quello degli elementi indesiderati o *tossicocivi*: essi, al contrario dei primi, sono esclusi o fortemente limitati dall'assorbimento.

⁹ J. POPOVIC-DJORDJEVIC - Z. S. MARJANOVIC - N. GRSIC - T. ADZIC - B. POPOVIC - J. BOGOSAVLJEVIC - I. BRCESKI, *Essential Elements as a Distinguishing Factor between Mycorrhizal Potentials of Two Cohabiting Truffle Species in Riparian Forest Habitat in Serbia*, in *Chem. Biodivers.*, 2019, 16, e1800693, DOI: 10.1002/cbdv.201800693; M. ROSSBACH - C. STIEGHORST - H. POLKOWSKA-MOTRENKO - E. CHAJDUK - Z. SAMCZYNSKI - M. PYSZYNSKA - I. ZUBA - D. HONSTRASS - S. SCHMIDT, *Elemental analysis of summer truffles *Tuber aestivum* from Germany*, in *J. Radioanal. Nucl. Chem.*, 2019, 320, 475-483, DOI: 10.1007/s10967-019-06485-x; T. SEGELKE - K. VON WUTHENAU - G. NEITZKE - M. S. MULLER - M. FISCHER, *Food Authentication: Species and Origin Determination of Truffles (*Tuber spp.*) by Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry and Chemometrics*, in *J. Agric. Food Chem.*, 2020, 68, 14374-14385, DOI: 10.1021/acs.jafc.0c02334; L. BONTEMPO - F. CAMIN - M. PERINI - L. ZILLER - R. LARCHER, *Isotopic and elemental characterisation of Italian white truffle: A first exploratory study*, in *Food Chem. Toxicol.*, 2021, 145, 111627, DOI: 10.1016/j.fct.2020.111627.

Tra questi due estremi ci sono altri elementi chimici, il cui ruolo nella fisiologia delle piante è poco chiaro o ignoto, i quali sono assorbiti in maniera passiva, ovvero in maniera proporzionale alla disponibilità presente nel terreno.

Oltre al ruolo nel metabolismo delle piante, gli elementi chimici si possono distinguere in base all'abbondanza.

Si definiscono elementi *maggiori* quelli presenti sopra 1% in peso, *minori* quelli presenti tra 0.1 e 1%, *tracce* ed *ultra-tracce* quelli presenti al di sotto di 0.1%.

Gli elementi in tracce ed ultra-tracce, detti anche *microelementi*, sono di particolare interesse in ambito geochimico in quanto possono fungere da marcatori del territorio, fornendo informazioni sull'origine delle rocce e di ciò che da esse può derivare.

Questo per alcuni motivi:

- le variazioni delle concentrazioni dei microelementi molto più ampie di quelle degli elementi maggiori o minori;
- in ogni sistema naturale ci sono molti più microelementi che elementi maggiori o minori, il che significa un maggior numero di variabili a disposizione;
- i microelementi sono collettivamente sensibili a processi a cui non sono sensibili gli elementi maggiori o minori.

Grazie a queste caratteristiche, oltre che in ambito geochimico i microelementi sono sfruttati anche in ambito agroalimentare¹⁰.

Gli studi scientifici che li impiegano sono di due tipi.

Da un lato si cercano descrittori chimici per differenziare produzioni alimentari dello stesso tipo ma di differente provenienza geografica, o di differente specie biologica, o ancora ottenuti con differenti procedimenti tecnologici: questi sono chiamati studi di *autenticazione*¹¹.

¹⁰ M. ACETO, *Food forensics*, in Y. PICÓ (a cura di), *Advanced mass spectrometry for food safety and quality*, vol 68, Comprehensive Analytical Chemistry, Amsterdam, Elsevier, 2015, pp. 441-514; M. ACETO, *The use of ICP-MS in food traceability*, in M. ESPÍÑEIRA - F.J. SANTACLARA (a cura di), *Advances in food traceability techniques and technologies: improving quality throughout the food chain*, Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition, Sawston (UK), Woodhead Publishing, 2016, pp. 137-164.

¹¹ È opportuno precisare che gli studi di autenticazione in ambito agroalimentare vanno ben al di là dell'utilizzo dei microelementi, potendo sfruttare un amplissimo set di descrittori chimici e biologici; si veda al proposito, solo per citare testi recenti di riferimento, *Food Authentication: Management, Analysis and Regulation*, C. A. GEORGIU - G. P. DANEZIS (a cura di), New York, John Wiley & Sons Ltd., 2017; *Food Authentication and Traceability*, C. GALANAKIS (a cura di), Cambridge, Massachusetts, Academic Press, 2020.

Dall'altro, i microelementi sono impiegati per trovare il legame tra un territorio e i prodotti agricoli che da esso derivano, passando attraverso le loro filiere: questi sono chiamati studi di *tracciabilità*¹².

Sia l'autenticazione che la tracciabilità sono strumenti utili per verificare la corrispondenza tra quanto dichiarato in etichetta e quanto effettivamente presente in un prodotto agroalimentare.

A questo scopo sono particolarmente utili i *lantanidi*, un gruppo di 14 elementi chimici che vanno dal lantanio (simbolo chimico La, numero atomico 57) al lutezio (simbolo chimico Lu, numero atomico 71)¹³.

I lantanidi più gli elementi scandio e ittrio, a loro molto affini dal punto di vista chimico, costituiscono il gruppo delle *terre rare*.

La caratteristica principale dei lantanidi è la forte omogeneità nel comportamento chimico, che fa sì che la loro distribuzione¹⁴ nei sistemi naturali si mantenga quasi sempre inalterata.

Tale caratteristica è spesso sfruttata dai geochimici, che usano i lantanidi come *markers* dell'origine delle rocce.

Per lo stesso motivo essa è di interesse anche per chi si occupa di autenticazione e tracciabilità degli alimenti: numerosi studi testimoniano infatti come la distribuzione dei lantanidi in un terreno costituisca una vera e propria impronta digitale, un *fingerprint* che si riflette nelle piante che su quel terreno crescono¹⁵, e, potenzialmente, negli alimenti che si originano da quelle piante¹⁶.

¹² Si noti che il concetto di *tracciabilità* non è qui inteso in senso merceologico, ovvero come monitoraggio dei flussi materiali, bensì in senso strettamente analitico, ovvero nella determinazione di parametri chimici utili a seguire la filiera di un alimento dal terreno alla tavola.

¹³ Il gruppo dei lantanidi in realtà comprende un quindicesimo elemento, il promezio (simbolo chimico Pm, numero atomico 61), lantanide di originale artificiale e pertanto solitamente non preso in considerazione.

¹⁴ Per *distribuzione* si intende l'insieme delle concentrazioni di un gruppo di elementi chimici e i loro rapporti relativi.

¹⁵ P. H. BROWN - A. H. RATHJEN - R. D. GRAHAM - D. E. TRIBE, *Rare earth elements in biological systems*, in K. A. GSCHNEIDER - L. EYRING (a cura di), *Handbook on the physics and chemistry of rare earths*, vol. 13, Amsterdam, Elsevier, 1990, pp. 423-450; G. TYLER, *Rare earth elements in soil and plant systems - A review*, in *Plant Soil*, 2004, 267, 191-206, DOI: 10.1007/s11104-005-4888-2; T. LIANG - S. DING - W. SONG - Z. CHONG - C. ZHANG - H. LI, *A review of fractionations of rare earth elements in plants*, in *J. Rare Earths*, 2008, 26, pp. 7-15, DOI: 10.1016/S1002-0721(08)60027-7.

¹⁶ M. BETTINELLI - S. SPEZIA - C. BAFFI - G. M. BEONE - R. ROCCHETTA - A. NASSISI, *ICP-MS determination of REEs in tomato plants and related products: a new analytical tool to verify traceability*, in *Atom. Spectrosc.*, 2005, 26, 41-50, DOI: 10.46770/AS.2005.02.001.

L'esempio riportato nelle figure in allegato chiarirà meglio il concetto. Nella Figura 1 sono mostrate le distribuzioni dei lantanidi in un terreno e in una pianta ivi derivante.

L'andamento delle distribuzioni segue la legge di Oddo-Harkins¹⁷, come è prassi per tutti i sistemi naturali.

Queste distribuzioni sono tuttavia poco confrontabili perché le concentrazioni assolute degli elementi sono fino a tre ordini di grandezza più alte nel terreno che nella pianta.

Si effettua perciò la *normalizzazione al cerio*, ovvero si divide ogni concentrazione di ogni elemento per la concentrazione del lantanide cerio (simbolo chimico Ce, numero atomico 58) secondo la formula seguente:

$$\begin{aligned} [\text{elemento nel terreno}]_{\text{Ce-norm}} &= [\text{elemento nel terreno}]/[\text{Ce nel terreno}] \\ [\text{elemento nella pianta}]_{\text{Ce-norm}} &= [\text{elemento nella pianta}]/[\text{Ce nella pianta}] \end{aligned}$$

In questo modo le due distribuzioni diventano confrontabili (Figura 2).

Tuttavia, la parte destra del grafico, che riporta i lantanidi più pesanti, risulta schiacciata a causa delle concentrazioni più elevate¹⁸ dei lantanidi più leggeri. Perciò, per migliorare ancora il confronto, si sceglie di mostrare le concentrazioni su una scala logaritmica anziché lineare, e in questo modo il confronto è più agevole su tutta la distribuzione (Figura 3).

Una volta posti i dati nelle migliori condizioni per un confronto fruttuoso, si può notare come le due distribuzioni siano sovrapponibili, ovvero come il *fingerprint* del terreno si sia trasmesso alla pianta.

Con questo presupposto grafico, si può verificare se il *fingerprint* del terreno si ritrova anche negli alimenti di origine vegetale.

Se così fosse, esso costituirebbe un legame tra l'alimento e il territorio di provenienza, e sarebbe pertanto un mezzo utile per certificarne la provenienza geografica.

¹⁷ Cfr. G. ODDO, Die Molekularstruktur der radioaktiven Atome, in *Z. Anorg. Allg. Chem.*, 1914, 87, 253-268; W. D. HARKINS, The evolution of the elements and the stability of complex atoms. I. A new periodic system which shows a relation between the abundance of the elements and the structure of the nuclei of atoms, in *J. Am. Chem. Soc.*, 1917, 39, 856-879. Secondo la legge di ODDO-HARKINS, gli elementi chimici a numero atomico pari sono più abbondanti di quelli a numero atomico dispari immediatamente precedente e immediatamente successivo; ciò genera un tipico andamento *a dente di sega*. Nella Figura 1, per meglio apprezzare il mantenimento di tale andamento, si è scelto di inserire sull'asse orizzontale, tra il neodimio (simbolo chimico Nd, numero atomico 60) e il samario (simbolo chimico Sm, numero atomico 62), anche il già citato promezio (simbolo chimico Pm, numero atomico 61).

¹⁸ Si noti che dopo la normalizzazione al cerio le concentrazioni degli elementi sono *relative* e non *assolute*.

In tale direzione vanno recenti studi sulla nocciola¹⁹, sull'olio di oliva extravergine²⁰ e sui funghi²¹, nei quali si è riscontrata la permanenza del *fingerprint* del terreno negli alimenti.

In altri casi si è verificata la permanenza fino ad un certo punto della filiera: nel caso del vino si è notato come il legame terreno-alimento si mantenga inalterato fino al mosto per poi perdersi a seguito dei processi coinvolti nella filiera²², che provocano *frazionamento*, ovvero una differenziazione nel comportamento all'interno del gruppo dei lantanidi che causa la perdita dell'impronta digitale e quindi l'impossibilità di tracciare la provenienza geografica.

Analogo fenomeno si è riscontrato nella filiera del latte²³, dove l'impronta digitale del terreno si ritrova nelle erbe destinate a produrre foraggio ma non nel latte crudo, in quanto il passaggio del foraggio negli stomaci delle mucche causa frazionamento; successivamente, la nuova distribuzione dei lantanidi nel latte crudo si mantiene inalterata nei prodotti da esso derivati, come latte imbottigliato e panna. Attualmente sono in corso studi su altri alimenti di origine vegetale, quali la mandorla di Avola, la fragolina profumata di Tortona, la pesca di Volpedo e il miele.

Gli studi di autenticazione e tracciabilità sono particolarmente utili per gli alimenti di pregio sottoposti a frode. Le possibilità di sviluppare proto-

¹⁹ M. ODDONE - M. ACETO - M. BALDIZZONE - D. MUSSO - D. OSELLA, Authentication and traceability study of hazelnuts from Piedmont, Italy, in *J. Agric. Food Chem.*, 2009, 57, 3404–3408, DOI: 10.1021/jf900312p.

²⁰ M. ACETO - E. CALÀ - D. MUSSO - N. REGALLI - M. ODDONE, A preliminary study on the authentication and traceability of extra virgin olive oil made from Taggiasca olives, in *Food Chem.*, 2019, 298, 125047, DOI: 10.1016/j.foodchem.2019.125047.

²¹ M. SCAIOLA, Studio di tracciabilità di funghi provenienti dal Piemonte e dalla Liguria mediante tecniche ICP, tesi di laurea magistrale in Scienze Chimiche, Università degli Studi del Piemonte Orientale, Dipartimento di Scienze e Innovazione Tecnologica, anno accademico 2016-2017.

²² M. ACETO - E. ROBOTTI - M. ODDONE - M. BALDIZZONE - G. BONIFACINO - G. BEZZO - R. DI STEFANO - F. GOSETTI - E. MAZZUCCO - M. MANFREDI - E. MARENGO, A traceability study on the Moscato wine chain, in *Food Chem.*, 2013, 138, 1914-1922, DOI: 10.1016/j.foodchem.2012.11.019; M. ACETO - F. BONELLO - D. MUSSO - C. TSOLAKIS - C. CASSINO - D. OSELLA, Wine traceability with Rare Earth Elements, in *Beverages*, 2018, 4, 23, DOI: 10.3390/beverages4010023; M. ACETO - F. GULINO - E. CALÀ - E. ROBOTTI - M. PETROZZIELLO - C. TSOLAKIS - C. CASSINO, Authentication and traceability study on Barbera d'Asti and Nizza DOCG wines: the role of trace- and ultratrace elements, in *Beverages*, 2020, 6, 63; DOI: 10.3390/beverages6040063.

²³ M. ACETO - D. MUSSO - E. CALÀ - F. ARIERI - M. ODDONE, Role of lanthanides in the traceability of the milk production chain, in *J. Agric. Food Chem.*, 2017, 65, 4200-4208, DOI: 10.1021/acs.jafc.7b00916.

colli di analisi efficienti sono molto buone nel caso di alimenti a filiera corta o cortissima, quali i prodotti ortofrutticoli. Per gli alimenti a filiera complessa (es. insaccati, prodotti caseari, conserve) la tracciabilità diventa difficile o impossibile. In tali casi, tuttavia, è quasi sempre possibile trovare descrittori chimici utili per l'autenticazione, cioè per la differenziazione su base geografica, specifica²⁴ o tecnologica.

3. Autenticazione, tracciabilità e il *T. magnatum*

Il tartufo è un alimento naturale per eccellenza.

Per quanto esso non sia un vegetale ma appartenga al regno dei funghi²⁵, è ragionevole pensare, sulla base di recenti studi scientifici²⁶, che le considerazioni fatte in precedenza sull'interazione tra terreno e specie vegetali per quanto riguarda i microelementi siano estensibili anche all'interazione tra terreno e funghi e tra terreno e tartufi.

Si tratta senza dubbio di uno degli alimenti più idonei agli studi di autenticazione e tracciabilità, e questo per vari motivi:

- come detto in precedenza, è uno degli alimenti più costosi al mondo, quindi tra i più soggetti a contraffazione, sia specifica (*Tuber borchii* Vittadini venduto al posto di *T. magnatum*) sia geografica (*T. magnatum* di provenienza forestiera venduto come tartufo bianco d'Alba);
- la sua filiera è cortissima: nel suo passaggio dal terreno alla tavola non ci sono manipolazioni che possano alterarne le caratteristiche chimico-fisiche e pertanto la composizione del prodotto in termini di microelementi rispecchia esclusivamente le caratteristiche del terreno e della specie;
- si tratta di un alimento con una composizione abbastanza complessa in termini di abbondanza di composti chimici, ma questo è un vantaggio per la ricchezza di variabili da sfruttare a scopo di autenticazione;

²⁴ Si noti che il termine "specifico", qui come nel seguito, si riferisce alla differenza tra specie biologiche differenti.

²⁵ R. H. WHITTAKER, New Concepts of Kingdoms of Organisms, in *Science*, 1969, 163, 150-160, DOI: 10.1126/science.163.3863.150.

²⁶ Il già citato lavoro di tesi del Dott. M. SCAIOLA, *Studio di tracciabilità di funghi provenienti dal Piemonte e dalla Liguria mediante tecniche ICP*, 2017; A. L. ZOCHER - D. KRAEMER - G. MERSCHER - M. BAU, *Distribution of major and trace elements in the bolete mushroom *Suillus luteus* and the bioavailability of rare earth elements*, in *Chem. Geol.*, 2018, 483, 491-500, DOI: 10.1016/j.chemgeo.2018.03.019; G. KOUTROTSIOS - G. P. DANEZIS - C. A. GEORGIU - G. I. ZERVAKIS, *Rare earth elements concentration in mushroom cultivation substrates affects the production process and fruit-bodies content of *Pleurotus ostreatus* and *Cyclocybe cylindracea**, in *J. Sci. Food Agric.*, 2018, 98, 5418-5427, DOI: 10.1002/jsfa.9085.

- nei tartufi il contenuto medio di microelementi - e di lantanidi in particolare - è alto in quanto questi organismi, come i funghi, agiscono da *bio-accumulatori* di ioni metallici dal terreno, ovvero tendono ad arricchirsi, e quindi è possibile determinare un numero elevato di microelementi, a vantaggio, nuovamente, della ricchezza di descrittori chimici utili per autenticazione e tracciabilità.

Recentemente, questi presupposti sono stati sviluppati all'interno di una tesi di laurea magistrale in Scienze Chimiche presso il Dipartimento di Scienze e Innovazione Tecnologica dell'Università degli Studi del Piemonte Orientale²⁷.

In tale ricerca sperimentale, si è impiegata l'analisi elementare mediante tecniche ICP-OES²⁸ e ICP-MS²⁹ per determinare elementi maggiori, minori e microelementi in una serie di campioni di *T. magnatum* forniti da cavatori della provincia di Alessandria³⁰, insieme a campioni di terreno prelevati nel sito di cavatura.

L'analisi di questi campioni aveva lo scopo di verificare la tracciabilità del sistema terreno/tartufo, ovvero verificare se il *fingerprint* del terreno, descritto dai suoi microelementi, si ritrova inalterato nel tartufo ivi cavato. Inoltre, sono stati analizzati campioni di *T. borchii* dalla provincia di Alessandria, di *Tuber melanosporum* dalla provincia di Biella, di *T. melanosporum* dalla Svizzera e infine di *T. magnatum* reperiti su Internet e venduti come tartufi bianchi piemontesi; l'analisi di questo secondo gruppo di campioni aveva lo scopo di verificare la possibilità di autenticare i campioni di *T. magnatum* di provenienza certa, identificando descrittori chimici in grado di differenziare i due gruppi.

L'analisi elementare dei campioni di tartufo è di tipo invasivo (richiede un'aliquota di campione) e distruttivo (il campione è completamente consumato). Nel caso presente, è stato necessario circa 1 g di campione, prima sottoposto ad essiccazione in stufa a 70°C, poi a digestione acida

²⁷ F. FRACCHETTA, *Studio preliminare di tracciabilità del tuber magnatum mediante analisi ICP e trattamento multivariato dei dati*, tesi di laurea magistrale in Scienze Chimiche, Università degli Studi del Piemonte Orientale, Dipartimento di Scienze e Innovazione Tecnologica, anno accademico 2019-2020.

²⁸ ICP-OES: Inductively Coupled Plasma – Optical Emission Spectroscopy. Si tratta di una tecnica di analisi strumentale in grado di determinare elementi in concentrazioni fino a µg/L.

²⁹ ICP-MS: Inductively Coupled Plasma – Mass Spectrometry. Si tratta di una tecnica di analisi strumentale in grado di determinare elementi in concentrazioni fino a ng/L.

³⁰ Si ringrazia l'Associazione Tartufai del Monferrato e i cavatori della zona di Alice Bel Colle, con particolare riferimento al Sig. Francesco Novelli, per aver fornito i campioni di *T. magnatum* e i corrispondenti terreni.

con HNO₃ concentrato. La soluzione ottenuta è stata analizzata con ICP-OES per la determinazione degli elementi maggiori e minori, ICP-MS per i microelementi. L'analisi elementare dei campioni di terreno ha richiesto il trattamento di 0.5 g di campione con acqua regia (miscela HNO₃/HCl 1:3) e H₂O₂ in contenitore chiuso. La soluzione ottenuta è stata analizzata in maniera analoga alla precedente.

In base ai dati dell'analisi ICP, è possibile fare considerazioni interessanti sulla possibilità di (1) tracciare e (2) autenticare il *T. magnatum* di provenienza piemontese. Nella Figura 4 sono mostrate le distribuzioni dei lantanidi in un terreno e in un campione di tartufo bianco ivi cavato.

Come si può notare, la corrispondenza tra le due distribuzioni è notevole, e indica che il *fingerprint* di quel terreno si rispecchia senza dubbio nel tartufo ivi cresciuto. Tale comportamento è stato riscontrato in tutte le coppie terreno/tartufo analizzate. Con questi presupposti, si può ipotizzare che tartufi provenienti da terreni con impronte digitali differenti presentino a loro volta distribuzioni differenti di lantanidi. Quindi dovrebbe essere possibile sia la tracciabilità che l'autenticazione su base geografica.

Per apprezzare la particolare ed esclusiva efficacia dei lantanidi nella tracciabilità, si noti nella Figura 5 la differenza tra la distribuzione dei lantanidi (evidenziata nel riquadro) e degli altri microelementi nella coppia terreno/tartufo.

Nella figura, i dati dopo normalizzazione al cerio evidenziano le anomalie dei microelementi che hanno comportamenti differenti dai lantanidi.

Gli elementi nutrienti come Mg, K, Ca, Mn, Fe, Zn e Cu si ritrovano nel tartufo in quantità maggiore che nel terreno, rispetto ai lantanidi, perché vengono assorbiti attivamente dal vegetale (mentre i lantanidi sono assorbiti passivamente). Perciò gli elementi nutrienti sono utili al vegetale ma non per determinarne la tracciabilità, in quanto la loro distribuzione nel vegetale non riflette quella del terreno, al contrario dei lantanidi. Si può notare invece come l'ittrio (simbolo chimico Y, numero atomico 39) segua perfettamente l'andamento dei lantanidi, essendo a loro chimicamente molto affine: si tratta infatti, insieme allo scandio e a tutto il gruppo dei lantanidi, di una *terra rara*.

Dopo la verifica del legame terreno/tartufo, e quindi della possibilità di tracciare la sua origine geografica, si passa a verificare la possibilità di sfruttare questa caratteristica ai fini dell'autenticazione del tartufo. Le vie da perseguire sono due:

- autenticazione su base specifica, ovvero distinguere il *T. magnatum* da specie meno pregiate o comunque differenti;

- autenticazione su base geografica, ovvero distinguere il *T. magnatum* del Piemonte da quello proveniente da altre aree geografiche.

Alcuni recenti studi di autenticazione del tartufo, pubblicati su riviste scientifiche³¹, hanno già impiegato i microelementi allo scopo. Nel caso presente si cita lo studio riportato nella tesi di laurea magistrale in Scienze Chimiche del Dott. Fracchetta, che ha mostrato risultati promettenti utilizzando le concentrazioni dei lantanidi normalizzate al cerio.

I dati dell'analisi ICP dei campioni citati in precedenza sono stati sottoposti all'analisi delle componenti principali (PCA)³², un metodo matematico di analisi multivariata che permette di ottenere una riduzione di dimensionalità, ovvero di visualizzare in maniera semplice l'informazione contenuta in un dataset complesso; si consideri che nel caso presente il dataset è composto da 49 campioni x 14 variabili (le concentrazioni dei lantanidi normalizzate al cerio) per un totale di 686 dati.

La Figura 6 riporta il grafico PC1 vs. PC2 in cui i campioni di *T. melanosporum* provenienti dalla Svizzera (rappresentati con pallini bianchi) sono distinguibili dal gruppo di tartufi piemontesi (rappresentati con pallini neri) costituito dai campioni di *T. magnatum* della provincia di Ales-

³¹ J. POPOVIC-DJORDJEVIC - Z. S. MARJANOVIC - N. GRASIC - T. ADZIC - B. POPOVIC - J. BOGOSAVLJEVIC - I. BRCESKI, *Essential Elements as a Distinguishing Factor between Mycorrhizal Potentials of Two Cohabiting Truffle Species in Riparian Forest Habitat in Serbia*, in *Chem. Biodivers.*, 2019, 16, e1800693, DOI: 10.1002/cbdv.201800693; M. ROSSBACH - C. STIEGHORST - H. POLKOWSKA-MOTRENKO - E. CHAJDUK - Z. SAMCZYNSKI - M. PYSZYNSKA - I. ZUBA - D. HONSTRASS - S. SCHMIDT, *Elemental analysis of summer truffles *Tuber aestivum* from Germany*, in *J. Radioanal. Nucl. Chem.*, 2019, 320, 475-483, DOI: 10.1007/s10967-019-06485-x; T. SEGELKE - K. VON WUTHENAU - G. NEITZKE - M. S. MULLER - M. FISCHER, *Food Authentication: Species and Origin Determination of Truffles (*Tuber spp.*) by Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry and Chemometrics*, in *J. Agric. Food Chem.*, 2020, 68, 14374-14385, DOI: 10.1021/acs.jafc.0c02334; L. BONTEMPO - F. CAMIN - M. PERINI - L. ZILLER - R. LARCHER, *Isotopic and elemental characterisation of Italian white truffle: A first exploratory study*, in *Food Chem. Toxicol.*, 2021, 145, 111627, DOI: 10.1016/j.fct.2020.111627.

³² L'analisi delle componenti principali o PCA, così come altri metodi di analisi matematica multivariata, consente di visualizzare in maniera semplice l'informazione contenuta in un ampio dataset, che normalmente risulta di difficile lettura qualora i dati stessi siano in formato tabellare. Nella PCA, le variabili originarie (in questo caso le concentrazioni dei lantanidi nei campioni di tartufi) sono trasformate in nuove variabili o PC (Principal Components), che risultano essere combinazioni lineari delle variabili originarie; così facendo l'informazione presente nel dataset, normalmente dispersa tra tutte le variabili, viene compressa nelle prime PC calcolate, e un semplice grafico bivariato PC1 vs. PC2 permette solitamente di visualizzare in modo semplice una grande quantità della variabilità (ovvero dell'informazione) presente nel dataset.

sandria, *T. borchii* della provincia di Alessandria, *T. melanosporum* della provincia di Biella e *T. magnatum* reperiti su Internet e venduti come tartufi bianchi piemontesi. Oltre alla buona separazione tra tartufi svizzeri e piemontesi, si nota come due campioni di *T. magnatum* reperiti su Internet, evidenziati dal cerchio, siano notevolmente differenti dal gruppo dei tartufi piemontesi e perciò, con ogni probabilità, contraffatti.

Il grafico PC1 vs. PC2 contiene una percentuale pari a 88.84% della varianza totale, quindi dell'informazione, contenuta nel dataset. Perciò è un'immagine più che buona di come i campioni analizzati si raggruppano secondo i descrittori chimici scelti (i lantanidi). In sostanza, il risultato mostrato in figura suggerisce che, in base a questi descrittori, le caratteristiche del territorio sono più importanti di quelle della specie.

Oltre ai lantanidi, anche gli altri microelementi possono essere utili per l'autenticazione. Se infatti la distribuzione dei lantanidi permette di verificare in maniera specifica e selettiva la *tracciabilità* del tartufo (e più in generale degli alimenti di origine vegetale), allargando il range dei descrittori si possono avere schemi di autenticazione più efficaci, su base sia specifica, sia geografica. Selezionando i microelementi litio, manganese, rame, arsenico, bario, nonché le terre rare ittrio, cerio ed europio, e applicando l'analisi multivariata con il metodo PCA, si ottiene un nuovo schema di classificazione il cui risultato è mostrato nella Figura 7. Si può notare come, in base ai descrittori scelti, il gruppo dei soli campioni di *T. magnatum* della provincia di Alessandria (pallini neri) sia distinguibile dal resto dei campioni considerati in questo studio (pallini bianchi), differenti dai primi sia per origine geografica (Svizzera, provincia di Biella), sia per origine specifica (*T. melanosporum*, *T. borchii*).

Si noti anche che in questo secondo caso sono stati eliminati due tra i campioni di *T. magnatum* reperiti su Internet e venduti come tartufi bianchi piemontesi, in quanto già considerati come contraffatti in base al primo trattamento PCA.

Lo studio sviluppato nella tesi di laurea magistrale del Dott. Fracchetta è naturalmente un primo approccio al problema e andrà implementato con analisi su un numero molto maggiore di campioni.

4. Valutazioni conclusive

Da quanto detto sopra, sembrerebbe all'ordine del giorno lo sviluppo di protocolli analitici per determinare la genuinità del *T. magnatum* del Piemonte, basati su metodi di autenticazione e di tracciabilità.

Qui subentrano però considerazioni di ordine economico.

Va considerato in primo luogo che le analisi citate (ICP-OES e ICP-MS) sono sempre distruttive in quanto richiedono almeno 1 g di campione che viene consumato.

Le strumentazioni impiegate sono alla portata di laboratori di analisi medio-grandi, avendo un costo iniziale di 70.000-100.000 €.

Inoltre, affinché questi metodi possano essere affidabili, è necessario analizzare un numero statisticamente significativo di campioni di tartufo, comprendendo in ciò sia i campioni da autenticare, ovvero quelli di *T. magnatum* del Piemonte, sia quelli di provenienza *forestiera*³³ nei confronti dei quali si vuole verificare la differenza del *T. magnatum* del Piemonte.

Considerazioni statistiche di base indicano in 30 + 20 i campioni necessari allo sviluppo di un protocollo analitico affidabile.

Va poi considerata la variabilità stagionale: è necessario ripetere lo studio per almeno 3 annualità, per tenere conto delle fluttuazioni climatiche.

Tuttavia, è difficile pensare che il costo delle analisi sia un deterrente sufficiente a impedire lo sviluppo di un serio metodo analitico.

La domanda da porre è se il mercato del tartufo sia realmente intenzionato a incentivare la ricerca scientifica in questa direzione, viste le potenzialità nel rilevare le frodi.

La speranza è che a promuovere questi studi siano piccole realtà locali che vedano in essi un'opportunità per promuovere i loro territori.

Maurizio Aceto.

³³ Il termine *forestiero* può essere inteso con varie declinazioni, laddove si voglia differenziare il *T. magnatum* del Piemonte da quello proveniente da altre regioni italiane, oppure da quello di provenienza extra-italiana, o ancora da altre specie di tartufo.

Allegati:

Figura 1 - distribuzioni dei lantanidi in un terreno e in una pianta ivi derivante.

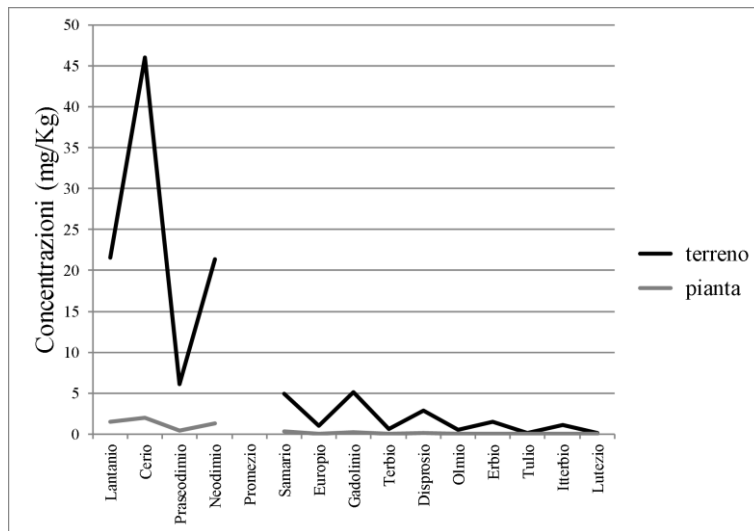


Figura 2 - Distribuzione dei lantanidi dopo normalizzazione al cerio

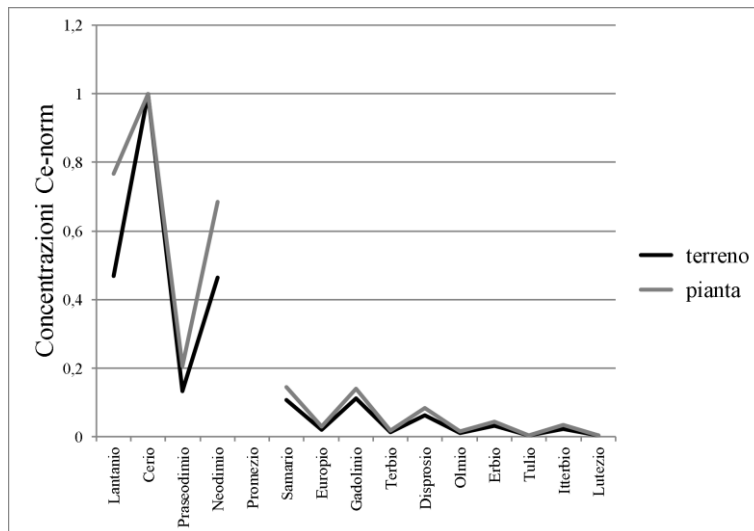


Figura 3 - Distribuzione dei lantanidi con scala logaritmica delle abbondanze

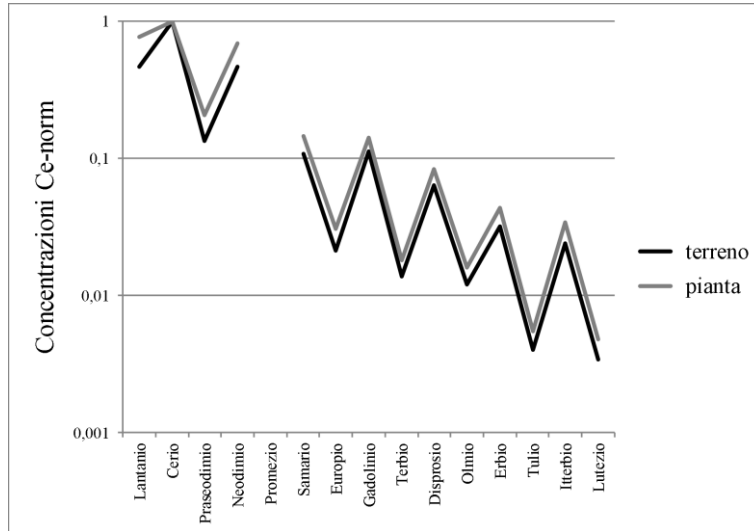


Figura 4 - Distribuzione dei lantanidi in un terreno della provincia di Alessandria e in un *T. magnatum* ivi cavato

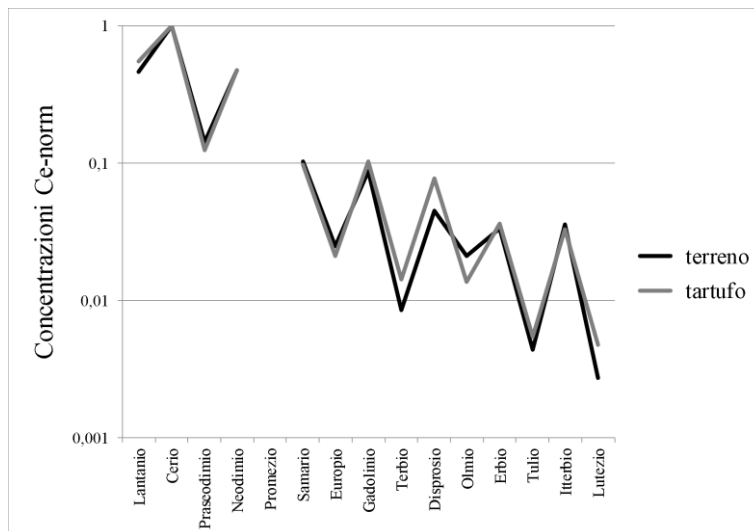


Figura 5 - Distribuzione dei microelementi in un terreno della provincia di Alessandria e in un *T. magnatum* ivi cavato

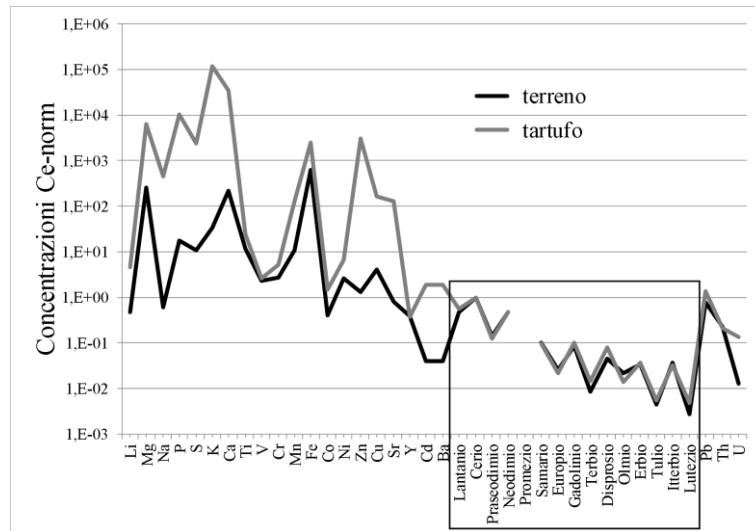


Figura 6 - Grafico PC1 vs. PC2 ottenuto con i dati dei lantanidi. Pallini bianchi: tartufi svizzeri; pallini neri: tartufi piemontesi di specie differenti

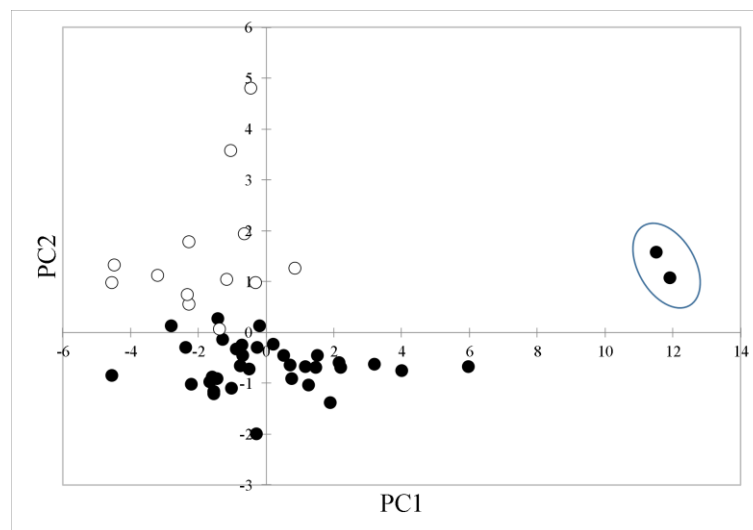
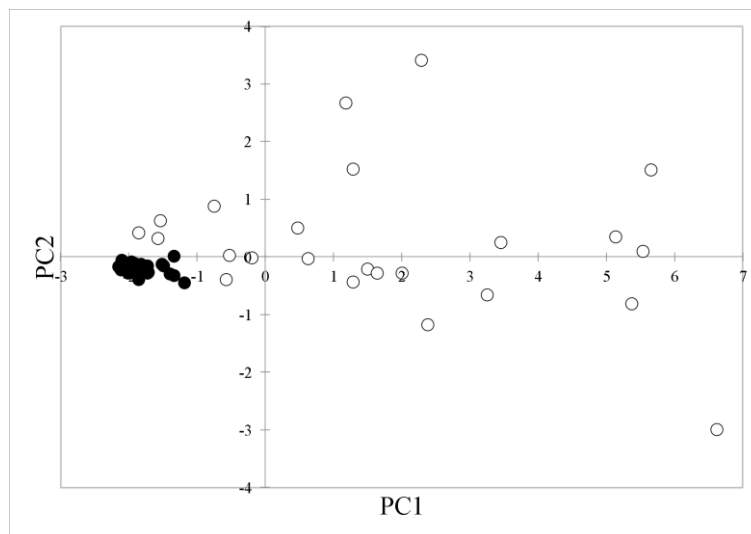


Figura 7 - Grafico PC1 vs. PC2 ottenuto con i dati dei microelementi Li, As, Y, Ce, ed Eu. Pallini neri: *T. magnatum* della provincia di Alessandria; pallini bianchi: *T. borchii* della provincia di Alessandria, *T. melanosporum* della provincia di Biella e *T. melanosporum* della Svizzera



ABSTRACT

Il *Tuber magnatum* Pico o tartufo bianco è uno degli alimenti più noti, pregiati e costosi al mondo. In particolare, quello raccolto nel Monferrato, nelle Langhe e nel basso Piemonte, è considerato in assoluto il migliore, e per questo motivo è un facile bersaglio per la contraffazione di tipo specifico o di tipo geografico. Negli ultimi anni la ricerca scientifica in campo chimico ha messo a disposizione alcuni metodi che puntano a rivelare queste frodi. In questo articolo si descrive il ruolo della determinazione dei microelementi come mezzo per salvaguardare la qualità del prodotto piemontese, attraverso l'identificazione dell'impronta digitale che dal terreno si trasmette al tartufo.

EN:

The *Tuber magnatum* Pico or white truffle is one of the best known, most valuable and expensive foods in the world. In particular, the one collected in Monferrato, Langhe and lower Piemonte, is considered the best by far, and for this reason it is an easy target for specific or geographical counterfeiting. In recent years, scientific research in the chemical field has made available some methods that aim to reveal these frauds. This article describes the role of the determination of microelements as a way to safeguard the quality of the piemontese product, through the identification of the fingerprint that is transmitted from the soil to the truffle.

PAROLE CHIAVE

ICP-MS, lantanidi, Piemonte, tartufo bianco del Monferrato, terreno, tracciabilità.

ICP-MS, lanthanides, Piemonte, Monferrato white truffle soil, traceability.