



# RAPPORTI ISTISAN 20|20<sub>Rev</sub>

ISSN: 1123-3117 (cartaceo) • 2384-8936 (online)

**VI Congresso nazionale**

## **Micotossine e tossine vegetali nella filiera agro-alimentare**

**Nobile Collegio Chimico Farmaceutico,  
Roma, 10 giugno 2019**

**Istituto Superiore di Sanità  
Roma, 11-12 giugno 2019**

**ATTI**

A cura di C. Brera



EPIDEMIOLOGIA  
E SANITÀ PUBBLICA

**ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ**

**VI Congresso Nazionale  
Micotossine e tossine vegetali  
nella filiera agro-alimentare**

**Nobile Collegio Chimico Farmaceutico,  
Roma, 10 giugno 2019  
Istituto Superiore di Sanità  
Roma, 11-12 giugno 2019**

**ATTI**

A cura di Carlo Brera

*Dipartimento Sicurezza Alimentare, Nutrizione e Sanità Pubblica Veterinaria*

ISSN: 1123-3117 (cartaceo) • 2384-8936 (online)

**Rapporti ISTISAN  
20/20 Rev.**

Istituto Superiore di Sanità

**VI Congresso Nazionale. Micotossine e tossine vegetali nella filiera agro-alimentare. Nobile Collegio Chimico Farmaceutico, Roma, 10 giugno 2019; Istituto Superiore di Sanità, Roma, 11-12 giugno 2019. Atti.**

A cura di Carlo Brera

2020, iii, 144 p. Rapporti ISTISAN 20/20 Rev. (in italiano e in inglese)

Il rapporto contiene gli atti del VI congresso sulle micotossine nella filiera agroalimentare che ha ospitato esperti che hanno presentato le più recenti evidenze scientifiche derivanti da progetti di ricerca, dalla gestione di situazioni di emergenza lungo l'intera filiera agro-alimentare nonché dall'adeguamento delle attività di (auto) autocontrollo alla nuova normativa vigente. A differenza delle precedenti edizioni, si è ritenuto di estendere la tematica anche alle tossine vegetali, ciò a seguito della costituzione di un nuovo laboratorio comunitario di riferimento unificato per micotossine e tossine vegetali. Sin dal 2004, il Congresso si è tenuto presso l'Istituto Superiore di Sanità con frequenza media biennale, rappresentando un'opportunità per i ricercatori e in generale tutti gli operatori del Servizio Sanitario Nazionale e della filiera agroalimentare per confrontarsi in base alle proprie esperienze.

*Parole chiave:* Micotossine; Tossine vegetali; Valutazione del rischio; Valutazione dell'esposizione; Metodi di analisi; Campionamento

Istituto Superiore di Sanità

**6th National Congress. Mycotoxins and plant toxins in agri-food chain. Nobile Collegio Chimico Farmaceutico, Rome, June 10, 2019; Istituto Superiore di Sanità, Rome, June 11-12, 2019. Proceedings.**

Edited by Carlo Brera

2020, iii, 144 p. Rapporti ISTISAN 20/20 Rev. (in Italian and in English)

This volume contains the proceedings of the 6<sup>th</sup> Congress on mycotoxins in agri-food chain. It involved the major experts, who presented the most recent scientific evidences deriving from research projects outputs, the management of emergency situations and the alignment of the own-check and official control activities to the new current legislation. Differently from the previous editions, it was decided to extend the topics also to the plant toxins, this in consideration of the new European Union Reference Laboratory that gathered Mycotoxins and plant toxins in the same organization. Since 2004 the National Congress has been held at the Istituto Superiore di Sanità (ISS, the National Institute of Health in Italy) with a two-year frequency, on average. This scientific event is an opportunity for researchers and stakeholders for discussing the effect of mycotoxins and plant toxins occurrence on economics, agriculture, industry, safety and legislation.

*Key words:* Mycotoxins; Plant toxins; Risk analysis; Exposure assessment; Analysis; Sampling

Per informazioni su questo documento scrivere a: [carlo.brera@iss.it](mailto:carlo.brera@iss.it)

Il rapporto è accessibile online dal sito di questo Istituto: [www.iss.it](http://www.iss.it)

Citare questo documento come segue:

Brera C (Ed.). *VI Congresso Nazionale. Micotossine e tossine vegetali nella filiera agro-alimentare. Nobile Collegio Chimico Farmaceutico, Roma, 10 giugno 2019; Istituto Superiore di Sanità, Roma, 11-12 giugno 2019. Atti.* Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2020. (Rapporti ISTISAN 20/20 Rev.).

---

Legale rappresentante dell'Istituto Superiore di Sanità: *Silvio Brusaferrò*

Registro della Stampa - Tribunale di Roma n. 114 (cartaceo) e n. 115 (online) del 16 maggio 2014

Direttore responsabile della serie: *Paola De Castro*

Redazione: *Sandra Salinetti e Manuela Zazzara*

La responsabilità dei dati scientifici e tecnici è dei singoli autori, che dichiarano di non avere conflitti di interesse.

## SESSIONE. Gestione del rischio

---

<b>Funghi micotossigeni e micotossine nel riso italiano in campo e durante lo stoccaggio</b> <i>Terenzio Bertuzzi, Silvia Rastelli, Annalisa Mulazzi, Marco Romani, Paola Giorni</i> .....	73
<b>Rischio micotossine: analisi dei più moderni sistemi di gestione per la sicurezza alimentare</b> <i>Daniela Maurizi</i> .....	77
<b>Aflatossina M<sub>1</sub> nei prodotti lattiero-caseari: individuazione dei criteri per la definizione dei fattori di concentrazione</b> <i>Gilberto Giangolini, Andrea Valiani</i> .....	81
<b>Strategie operative per la mitigazione del rischio da micotossine: criticità e progressi</b> <i>Amedeo Reyneri, Massimo Blandino, Valentina Scarpino</i> .....	85
<b>Innovazioni per il controllo delle micotossine nei cereali</b> <i>Massimo Blandino, Valentina Scarpino, Michael Sulyok, Francesca Vanara, Amedeo Reyneri</i> .....	90
<b>Ripartizione delle micotossine normate ed emergenti durante la molitura del mais</b> <i>Valentina Scarpino, Francesca Vanara, Michael Sulyok, Amedeo Reyneri, Massimo Blandino</i> .....	97
<b>Rischio micotossine: una possibile soluzione per il mais</b> <i>Rolando Manfredini</i> .....	101
<b>Micotossine e tossine vegetali: criticità nel settore molitorio</b> <i>Lorenzo Cavalli</i> .....	104
<b>Rete Qualità Mais</b> <i>Sabrina Locatelli, Stefania Mascheroni, Chiara Lanza, Nicola Pecchioni</i> .....	112
<b>Tossine dell'<i>Alternaria</i> spp. nel frumento: effetti della digestione anaerobica e BMP</b> <i>Gabriella Aureli, Angela Iori, Claudio Fabbri, Francesco Gallucci, Mariangela Soldano</i> .....	117
<b>Studio del comportamento del mais contaminato da aflatossine in digestione anaerobica</b> <i>Mariangela Soldano, Sergio Piccinini, Francesco Gallucci, Claudio Fabbri</i> .....	125
<b>Riduzione della contaminazione da micotossine nel mais mediante pulizia della granella su scala industriale</b> <i>Michelangelo Pascale, Katarina Slettengren, Anna N. Vega, Vincenzo Lippolis, Salvatore Cervellieri, Annalisa De Girolamo, Veronica M.T. Lattanzio, Biancamaria Ciasca, Antonio F. Logrieco</i> .....	129

## SESSIONE. Valutazione del rischio

---

<b>Percezione del rischio del consumatore alle micotossine e alle tossine naturali</b> <i>Agostino Macrì, Martina Bernardi</i> .....	135
<b>Valutazione dell'esposizione del consumatore alle micotossine: analisi dei dati NSIS 2016-2017</b> <i>Carlo Brera, Emanuela Gregori, Francesca Debegnach e Barbara De Santis</i> .....	138

# RIPARTIZIONE DELLE MICOTOSSINE NORMATE ED EMERGENTI DURANTE LA MOLITURA DEL MAIS

Valentina Scarpino (a), Francesca Vanara (a), Michael Sulyok (b), Amedeo Reyneri (a), Massimo Blandino (a)

(a) Dipartimento di Scienze Agrarie, Forestali e Alimentari, Università degli Studi di Torino, Grugliasco, Italia

(b) Center for Analytical Chemistry, Department for Agrobiotechnology (IFA-Tulln), Tulln, Austria

## Introduzione

Oggigiorno, risulta sempre più necessario raccogliere dati sulla presenza e diffusione delle cosiddette micotossine “emergenti” nelle più importanti aree cerealicole dell’Unione Europea (UE), al fine di salvaguardare la sicurezza alimentare del consumatore valutandone correttamente l’esposizione e il rischio in concomitanza alle micotossine normate. Infatti, recentemente è stata rivolta una crescente attenzione a tali metaboliti secondari, non ancora normati a livello internazionale, ma su cui è in corso un intenso esame per valutarne la diffusione e le implicazioni sanitarie.

Inoltre, non sono ancora note informazioni circa il ruolo della molitura del mais su tali micotossine. Per tale motivo, il presente studio ha l’obiettivo di valutare l’effetto dei processi molitori a secco sulla ripartizione delle micotossine normate quali: fumonisine B (FB), deossinivalenolo (DON), zearalenone (ZEA) e aflatossine (AF); e dei più diffusi metaboliti fungini cosiddetti “emergenti” nella granella di mais, nei semilavorati e nei prodotti finiti ad uso alimentare.

## Materiali e metodi

La sperimentazione è stata condotta presso un molino industriale processando 3 diversi lotti (2012-2014) con due sistemi di degerminazione:

- a secco: *Dry-Degermination*, DD;
- a umido: *Tempering-Degermination*, TD.

Campionando secondo il Regolamento (CE) 401/2006 (1) sono stati prelevati:

- la granella prima (Mais Non Pulito, MNP) e dopo la pulitura (Mais Pulito, MP);
- i sottoprodotti quali il germe, destinato essenzialmente all’industria olearia, e la farinetta ad uso zootecnico, un misto di crusca e parti di endosperma farinoso;
- i prodotti ad uso alimentare, quali le farine (bramata, fioretto e fumetto) dal processo di DD e gli *hominry grits* (grossi, medi e fini) dalla TD.

La granulometria delle particelle dei prodotti ad uso alimentare a base di mais ottenuti in seguito ai due processi di molitura è riportata in Tabella 1.

**Tabella 1. Ridistribuzione in base delle dimensioni delle particelle dei prodotti ad uso alimentare a base di mais in seguito ai due processi di molitura DD e TD**

Prodotti	Percentuale					
<b>Processo di molitura DD</b>						
	< 315 $\mu\text{m}$	315-500 $\mu\text{m}$	500-710 $\mu\text{m}$	710-800 $\mu\text{m}$	800-1000 $\mu\text{m}$	>1000 $\mu\text{m}$
Fioretto	95	5				
Fumetto	3	70	20	5	2	0
Bramata	4	12	35	22	25	2
<b>Processo di molitura TD</b>						
	< 2500 $\mu\text{m}$	2500-3000 $\mu\text{m}$	3000-4000 $\mu\text{m}$	>4000 $\mu\text{m}$		
<i>Hominy grits</i> fini	40	60				
<i>Hominy grits</i> medi	5	20	73			2
<i>Hominy grits</i> grossi						100

DD = dry-degermination; TD = tempering-degermination.

## Estrazione e clean-up

Durante la fase estrattiva 5 g di sfarinato di mais sono stati estratti con 20 mL di  $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{COOH}$  79:20:1 (v/v/v) e posti in agitazione in un agitatore orbitale per 90 min. Il surnatante è stato successivamente diluito 1:1 con una soluzione di  $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{COOH}$  20:79:1 (v/v/v) e sottoposto ad analisi UPLC-MS/MS (*Ultra Performance Liquid Chromatography - tandem Mass Spectrometry*) multi-micotossina.

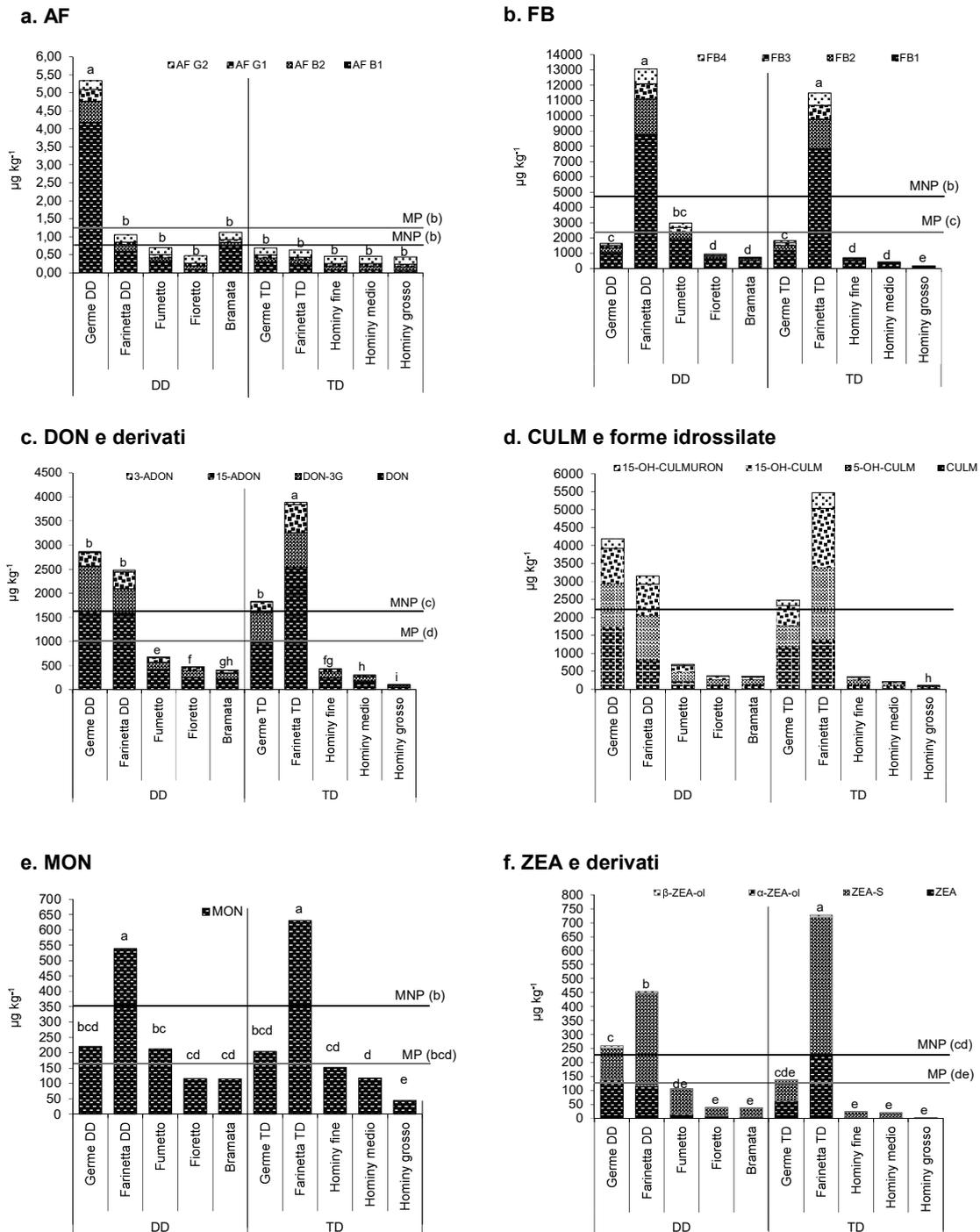
## Analisi UPLC-MS/MS Multi-micotossina

I campioni estratti sono stati analizzati con un metodo multi-micotossina mediante l'impiego di un sistema LC-MS/MS ibrido Qtrap 5500 equipaggiato con una sorgente di ionizzazione *TurboIonSpray electrospray* (ESI) e un Sistema UPLC, in grado di quantificare simultaneamente 295 diversi metaboliti batterici e fungini, tra cui le micotossine emergenti (2).

## Risultati e discussione

In tutti i campioni analizzati con il metodo LC-MS/MS multi-micotossina è stata rilevata la co-presenza delle micotossine normate e di 23 metaboliti fungini emergenti, tra cui: il 3- e il 15-acetildeossinivalenolo (3- e 15-ADON), l'aurofusarina, la beauvericina, la bikaverina, il butenolide, il deossinivalenolo-3-glucoside (DON-3-G), la culmorina (CULM) e le sue forme idrossilate (5- e 15-OH-CULM, 15-OH-CULMURON), le fumonisine A, la fusaproliferina (FUS), la fusarina C, la moniliformina (MON), il nivalenolo (NIV), le forme derivate dello ZEA –  $\alpha$ - e  $\beta$ -zearalenolo ( $\alpha$ -ZEA-ol e  $\beta$ -ZEA-ol), zearalenone-4-solfato (ZEA-S).

La Figura 1 riassume la ripartizione delle principali classi di micotossine rilevate in grafici separati: a) AF (AF B<sub>1</sub>, AF B<sub>2</sub>, AF G<sub>1</sub>, AF G<sub>2</sub>); b) FB (FB<sub>1</sub>, FB<sub>2</sub>, FB<sub>3</sub>, FB<sub>4</sub>); c) DON e derivati (DON, DON-3-G, 3-ADON, 15-ADON); d) CULM e forme idrossilate (CULM, 5- e 15-OH-CULM, 15-OH-CULMURON); e) MON; f) ZEA e derivati (ZEA,  $\alpha$ -ZEA-ol e  $\beta$ -ZEA-ol, ZEA-S).



**Figura 1. Ripartizione delle micotossine normate ed emergenti durante la molitura del mais. I valori medi, relativi al contenuto di micotossine/metaboliti fungini nelle diverse frazioni, seguiti da lettere diverse sono significativamente diversi (livello di significatività,  $P < 0,001$ )**

Le operazioni di pulitura hanno ridotto in media di 1,2-2 volte il contenuto di tutti i metaboliti fungini rilevati rispetto alla granella di origine.

Per quanto riguarda il germe, il livello di contaminazione non si è differenziato da quello della granella pulita per la maggior parte dei metaboliti, ad eccezione di: AF, DON e derivati, NIV, ZEA e derivati, CULM e forme idrossilate, FUS, acido fusarico e fusarinolico, fusarina C e acido cogico; per i quali ha presentato un contenuto superiore di almeno 2 volte rispetto alla granella pulita. Un aumento di contaminazione paragonabile è stato anche registrato nella farinetta ad uso zootecnico, che assomma tegumenti e frazioni fini delle parti di endosperma farinoso, per tutti i metaboliti rilevati.

I prodotti destinati al consumo umano sono sempre risultati meno contaminati dei sottoprodotti precedentemente menzionati. Le farine bramata e fioretto hanno presentato mediamente per tutte le micotossine una decontaminazione superiore al 70% rispetto alla granella di partenza; mentre il fumetto, che presenta la granulometria più fine, solo del 50% e in alcuni casi addirittura inferiore. L'*hominy grits* grosso è risultata la frazione più decontaminata per tutti i metaboliti, con valori medi di decontaminazione superiori all'80%.

I prodotti con granulometria più fine sono risultati essere quelli maggiormente contaminati.

## Conclusioni

La sperimentazione evidenzia che la distribuzione delle micotossine emergenti nelle frazioni di molitura, seppur per alcune il tasso di abbattimento è risultato inferiore, è simile a quella delle micotossine già normate. Infatti, per la maggior parte delle micotossine rilevate la contaminazione nei prodotti della lavorazione molitoria della granella di mais si riduce all'aumentare della granulometria del prodotto finito. Tale comportamento si è osservato per entrambi i processi di trasformazione considerati. Per le micotossine che hanno mostrato un'intensità di decontaminazione nei prodotti finiti inferiore rispetto a quello delle FB, si può ipotizzare una loro più interna localizzazione nell'endosperma della cariosside di mais. Risulta, inoltre, importante sottolineare l'aumento significativo della contaminazione nel germe di: AF, DON e derivati, NIV, ZEA e derivati, CULM e forme idrossilate, FUS, acido fusarico e fusarinolico, fusarina C e acido cogico. I dati raccolti forniscono una prima base per la valutazione del rischio di contaminazione da micotossine normate ed "emergenti" nei prodotti molitori della filiera maidicola alimentare. Pertanto, occorre prestare attenzione ai livelli di co-contaminazione nei prodotti con granulometria più fine e nei sottoprodotti e adottare attenti interventi di pulitura, tramite l'impiego di metodi sia meccanici che ottici.

## Bibliografia

1. Europa. Regolamento (CE) n. 401/2006 della commissione del 23 febbraio relativo ai metodi di campionamento e di analisi per il controllo ufficiale dei tenori di micotossine nei prodotti alimentari, *Gazzetta ufficiale dell'Unione europea* L 70/12 del 9.3.2006.
2. Malachova A, Sulyok M, Beltran E, Berthiller F, Krska R. Optimization and validation of a quantitative liquid chromatography - tandem mass spectrometric method covering 295 bacterial and fungal metabolites including all relevant mycotoxins in four model food matrices. *J Chromatogr A* 2014;1362:145-156.