

## Micotossine

I funghi filamentosi microscopici, comunemente noti come muffe, possono svilupparsi principalmente su derrate alimentari di origine vegetale (mais, grano, ecc.) ed in alcuni casi anche di origine animale (prodotti carnei, insaccati), e produrre, in particolari condizioni ambientali, sostanze tossiche note come micotossine. Le micotossine sono prodotte dal metabolismo secondario di alcune specie fungine appartenenti principalmente ai generi *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium* sia a seguito di stress ambientali cui la pianta è stata sottoposta come ad esempio condizioni di estrema aridità del campo, mancanza di un assorbimento bilanciato di nutrienti, sia a causa di fattori ambientali come condizioni climatiche, temperatura, umidità, attacco da insetti e volatili. Attualmente sono note più di 300 micotossine che essendo prodotte da un ampio spettro di specie fungine presentano strutture chimiche assai differenziate, con le aflatossine che presentano una struttura eterociclica altamente ossigenata, le ocratossine che presentano una struttura cumarinica derivata, ed i tricoteceni che possiedono una struttura assai simile tra loro, caratterizzata da quattro anelli condensati, con gruppi alcolici ed esterei ed un gruppo epossidico a cui si deve la loro tossicità. Le micotossine sono dotate di elevata tossicità per l'uomo e per gli animali con caratteristiche di genotossicità, cancerogenicità, immunotossicità, mutagenicità, nefrotossicità e teratogenicità. Gli alimenti possono risultare contaminati da micotossine a seguito di infestazione fungina direttamente sulla derrata: è stato calcolato che nel mondo circa il 25% dei raccolti sono soggetti alla contaminazione da micotossine nelle varie fasi di produzione, lavorazione, trasporto ed immagazzinamento. La definizione delle caratteristiche intrinseche dell'alimento in grado di favorire la contaminazione da micotossine è alquanto complessa, ma in generale substrati ricchi in carboidrati e lipidi sono risultati più esposti a questo tipo di contaminazione. Gli alimenti vegetali maggiormente a rischio sono i cereali, i legumi, la frutta secca ed essiccata, alcuni tipi di frutta, le spezie, il cacao ed il caffè verde. La contaminazione diretta può anche verificarsi, nelle fasi di immagazzinamento, anche su alimenti di origine animale quali formaggi ed insaccati. Inoltre, qualora mangimi contaminati vengano usati nell'alimentazione di animali da allevamento, anche i prodotti da questi derivati (latte, carne e uova) possono risultare contaminati da micotossine. Questo tipo di contaminazione "indiretta" può assumere una rilevanza considerevole a causa degli elevati livelli di micotossine potenzialmente presenti nei cereali, e soprattutto nelle loro parti più esterne, che costituiscono gli ingredienti di base delle formulazioni mangimistiche. Anche in alcuni alimenti trasformati, quali birra e vino, possono essere presenti micotossine a causa di contaminazione delle materie prime impiegate. Anche se, in alcuni ambienti di lavoro, l'assorbimento attraverso la pelle o attraverso le particelle disperse nell'aria costituisce fonte crescente di preoccupazione, le micotossine esercitano la loro azione tossica sull'uomo principalmente attraverso l'ingestione di alimenti contaminati. È importante sottolineare che le operazioni tecnologiche di lavorazione degli alimenti e le procedure domestiche di cottura non esercitano generalmente alcuna azione significativa di abbattimento sulle tossine inizialmente presenti nella materia prima o nell'alimento. Le micotossine, inoltre, sono sostanze chimiche che residuano nelle derrate alimentari anche laddove la muffa abbia cessato il suo ciclo vitale o sia stata rimossa dalle operazioni tecnologiche di lavorazione dell'alimento o del mangime. Alcuni casi particolari in cui può avvenire una riduzione della contaminazione sono rappresentati dalla molitura dei cereali per la quale si ha un impoverimento di micotossine nelle frazioni più interne del chicco, e la tostatura spinta, del tipo in uso in Italia, del caffè. Altre strategie di decontaminazione e detossificazione sugli alimenti e sui mangimi sono riconducibili a metodologie di natura fisica come l'irraggiamento e l'estrazione con solventi, di natura biologica come l'uso di microrganismi antagonisti, e di natura chimica come l'ammoniazione, anche se vietata in Europa, il trattamento con bisolfite, l'ozonizzazione, e la interazione con agenti chelanti. Le principali micotossine che attualmente sono all'attenzione della Autorità Sanitaria preposta alla tutela della salute pubblica sono le aflatossine, le fumonisine, le ocratossine, la patulina, i tricoteceni e lo zearalenone.

- Aflatossine
- Fumonisine
- Ocratossina A
- Patulina
- Tricoteceni
- Zearalenone
- Altre micotossine

## Aflatossine

Le Aflatossine sono prodotte dal metabolismo secondario di alcuni ceppi fungini di *Aspergillus flavus* (da cui il nome) e *Aspergillus parasiticus*, che si sviluppano su numerosi substrati vegetali come cereali (con particolare riferimento al mais), semi oleaginosi (come le arachidi), spezie, granaglie, frutta secca ed essiccata, sia durante la coltivazione che durante il raccolto e l'immagazzinamento. I requisiti per la produzione di aflatossine da parte dei diversi tipi di funghi produttori sono alquanto aspecifici e corrispondono a temperature comprese tra 25°C e 32 °C e a valori di acqua libera (Aw) tra 0.82 e 0.87. Le aflatossine vengono prodotte preferenzialmente su substrati ricchi di carboidrati e mentre le aflatossine B1 e B2 sono prodotte dall'*A. flavus* e dall'*A. parasiticus*, le G1 e G2 sono prodotte solo dal secondo. La produzione di aflatossine da parte dell'*A. flavus* risulta inoltre particolarmente abbondante in stagioni con temperature superiori alla media e piovosità inferiori alla media. Inoltre, la presenza di insetti spesso coincide con alti livelli di aflatossine specie nel caso della piralide del mais (*Ostrinia nubilalis*), in quanto gli insetti sono da considerare tra i maggiori responsabili della contaminazione sia per la veicolazione delle spore fungine, sia per il danneggiamento alla pianta con un' aumentata esposizione della stessa all'attacco fungino. Le aflatossine sono sostanze chimicamente riferibili alla difuranocumarina. Fra le 17 aflatossine finora isolate solo cinque sono considerate rilevanti sia per diffusione sia per tossicità: le aflatossine B1, B2, G1, G2 e la aflatossina M1, metabolita idrossilato, che deriva dal metabolismo della aflatossina B1 da parte di animali alimentati con mangimi contaminati con aflatossina B1. La aflatossina M1 si ritrova nel latte con una percentuale di trasferimento che oscilla tra l'1% ed il 3% a seconda delle specie animali. La serie G contiene un anello lattonico, mentre la serie B contiene un anello ciclopentenoico, che è responsabile della maggiore tossicità di questa serie. Le aflatossine vengono prodotte su substrati ricchi di carboidrati e mentre le aflatossine B1 e B2 sono prodotte dall'*A. flavus* e dall'*A. parasiticus*, le G1 e G2 sono prodotte solo dal secondo. Sono sostanze cristalline, solubili in solventi organici moderatamente polari, come cloroformio, metanolo, dimetilsolfossido, poco solubili in acqua (10-30 µg/ml) e insolubili nei solventi organici non polari. Le aflatossine allo stato puro sono stabili in assenza di luce e degradate dalle radiazioni UV, instabili in condizioni di pH < 3 e > 10 e in presenza di agenti ossidanti. Alcune di queste tossine sono dotate di fluorescenza nativa, che è utilizzata per l'analisi e per la cernita delle unità contaminate (ad esempio per fichi secchi e arachidi). L'aflatossina B1 è genotossica ed epatocancerogena e anche gli effetti tossici delle altre aflatossine sono riconducibili ad epatotossicità, iperplasia dei condotti biliari, emorragia del tratto gastrointestinale e dei reni. Essendo l'aflatossina B1 genotossica, non è possibile stabilire una soglia massima di assunzione con la dieta e pertanto il principio tossicologico di riferimento è quello di mantenere il livello di esposizione il più basso possibile (As Low As Reasonable Achievable, ALARA). Nel 1993 l'Agenzia Internazionale per la Ricerca sul Cancro, ha classificato la Aflatossina B1 nel Gruppo 1, cioè come "agente cancerogeno per l'uomo".

## Fumonisine

Le Fumonisine sono prodotte da funghi del genere *Fusarium*, soprattutto *F. verticilloides* e *F. proliferatum*. Le fumonisine attualmente studiate sono la Fumonisina B1, B2 e B3. Il cereale più frequentemente contaminato da queste tossine è il mais, ma la tossina è stata ritrovata anche nel sorgo e, a livelli modesti, nella birra e nel cacao. I requisiti minimi per la produzione di fumonisine da parte dei diversi tipi di funghi sono caratterizzati da una temperatura ottimale di crescita del fungo produttore pari a 25°C e da valori di acqua libera (Aw) compresi tra 0.90 e 1. Dal punto di vista della struttura chimica, le fumonisine sono correlate alle basi sfingoidi. Si ritiene che la tossicità della FB1 sia legata all'analogia strutturale con la sfingosina, componente della membrana sfingolipidica. Da un punto di vista epidemiologico non sussiste ancora una correlazione diretta tra incidenza di tumore esofageo e consumo di mais contaminato da fumonisine, anche se la maggior parte degli studi propende per una possibile interrelazione. Studi di tossicità sugli animali evidenziano che il fegato è un organo bersaglio in tutte le specie studiate e il rene solo per alcune di esse. Nei cavalli il consumo di mais contaminato da fumonisine è collegato alla leucoencefalomalacia. Il Comitato Scientifico per l'Alimentazione (SCF) ha stabilito nel 2003 un livello massimo di esposizione giornaliera alle fumonisine (Tolerable Daily Intake - TDI) di 2 µg/kg di peso corporeo. Nel 1993 l'Agenzia Internazionale per la Ricerca sul Cancro, ha classificato la Fumonisina B1 nel Gruppo 2B, cioè come "possibile agente cancerogeno per l'uomo".

## Ocratossina A

L'Ocratossina A è prodotta principalmente da funghi del genere *Aspergillus* (principalmente *A. ochraceus*) e *Penicillium* (principalmente *P. verrucosum*). Da un'indagine svolta a livello europeo, la SCOOP Task 3.2.7., è risultato che i cereali rappresentano la fonte primaria di contaminazione (50%) in cui l'OTA è prodotta dai *Penicillium* più frequentemente che dagli *Aspergillus*, trattandosi in genere di una contaminazione da stoccaggio in cui si verificano più frequentemente le condizioni chimico-fisiche per la crescita dei funghi del genere *Penicillium*. Altre matrici interessate dalla contaminazione da Ocratossina sono risultate il vino (13%), il caffè (10%), le spezie (8%), la birra (5%), il cacao (4%), la frutta essiccata (3%), la carne (1%) ed altri alimenti vari con particolare riguardo per i succhi di frutta (6%). Per la vite e i prodotti derivati, incluso il vino, la contaminazione da ocratossina A è riferibile prevalentemente all'attacco dell' *A. carbonarius*. I valori di Aw (attività dell'acqua libera) ottimali per la produzione di tossina sono compresi nell'intervallo 0.95 - 0.99 a seconda dell'organismo produttore, mentre, gli intervalli ottimali di temperatura in cui si ha formazione di tossina sono compresi nell'intervallo 12 - 37°C per l'*A. ochraceus* e 4 - 31°C per il *P. verrucosum*. Gli effetti tossici dell'OTA includono una marcata nefrotossicità con necrosi tubulare dei reni, danni al fegato, enteriti, teratogenesi e cancerogenicità a carico dei reni. Il Comitato Scientifico per l'Alimentazione (SCF) ha concluso che la esposizione giornaliera alla ocratossina deve essere mantenuta a valori inferiori a 5 ng/kg di peso corporeo. Nel 1993, l'Agenzia Internazionale per la Ricerca sul Cancro, ha classificato la Ocratossina A nel Gruppo 2B, cioè come "possibile agente cancerogeno per l'uomo".

## Patulina

La **Patulina** è una tossina prodotta da un numero elevato di funghi del genere *Aspergillus* e *Penicillium*. E' essenzialmente presente nella frutta, e negli ortaggi, ma la sua presenza è correlata soprattutto alla contaminazione da *P. expansum* nelle mele. Il grado di contaminazione è generalmente proporzionale a quello di ammuffimento, ma la tossina rimane confinata alle parti ammuffite. Essendo la patulina resistente ai processi industriali di lavorazione della frutta, i prodotti da questi derivanti costituiscono le principali fonti di assunzione per questa tossina. La fermentazione alcolica è in grado di distruggere la patulina, pertanto i prodotti fermentati come il sidro di mele o pere non contengono patulina. Da un punto di vista chimico la patulina è un lattone, solubile in acqua, etanolo ed acetone. La Patulina è considerata mutagena anche sebbene possa non essere cancerogena. Da studi condotti sugli animali ha mostrato immunotossicità, neurotossicità, ed effetti dannosi sullo sviluppo del feto e sul tratto gastrointestinale. Inoltre, inibisce in vitro numerosi enzimi, incluse la DNA polimerasi e l'RNA polimerasi. Studi condotti sulla valutazione degli effetti combinati della Patulina sulla riproduzione, tossicità a lungo termine e cancerogenicità hanno stimato una assunzione sicura ("safe dose") fino a 43 µg/kg per peso corporeo al giorno. Sulla base di questi studi usando un fattore di sicurezza di 100, il Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) ha stabilito un livello massimo tollerabile provvisorio di assunzione giornaliero pari a 0.4 µg/kg per peso corporeo. Nel 1993 l'Agenzia Internazionale per la Ricerca sul Cancro, ha classificato la Patulina nel Gruppo 3, cioè come "non classificabile come agente cancerogeno per l'uomo".

## Tricoteceni

I tricoteceni sono un gruppo di sostanze prodotte da varie specie fungine dei generi *Fusarium*, *Myrothecium*, *Stachybotrys*, *Trichoderma*, *Cephalosporium*, *Trichothecium* e *Verticimonosporium*. Sono attualmente noti circa 170 tricoteceni, tutti caratterizzati da un sistema ad anello tetraciclico sesquiterpenoide 12,13-epossitricotecen-9-ene, la cui tossicità è dovuta al gruppo epossidico. La contaminazione si ha principalmente in frumento, orzo, avena, segale e mais. A seconda dei gruppi funzionali, i tricoteceni si suddividono in due gruppi, quelli appartenenti al tipo A includono principalmente le tossine T-2, HT-2 e diacetossiscirpenolo (DAS), caratterizzate dalla presenza di un gruppo diverso da un carbonile al C8 e quelli del tipo B caratterizzati dalla presenza di un gruppo carbonile al C8 che includono principalmente il deossinivalenolo (DON), noto anche come vomitossina, il nivalenolo (NIV), il 3-acetildeossinivalenolo (3-AcDON) e il 15-acetildeossinivalenolo (15-AcDON). La tossina con proprietà tossiche più spiccate è la tossina T-2, seguita dal DAS e dal NIV, mentre il DON è la tossina più studiata in quanto riscontrabile negli alimenti in modo più diffuso, pur avendo mostrato

una bassa tossicità acuta. Gli effetti tossici sull'uomo riferibili alle tossine di questo gruppo includono nausea, vomito, disordini gastrointestinali e cefalea. Nel 2002 Il Comitato Scientifico per l'Alimentazione (SCF) ha stabilito per il DON una assunzione massima giornaliera di 1 µg/kg di peso corporeo, e limiti temporanei per il NIV (0.7 µg/kg di peso corporeo) e per le tossine T-2 e HT-2 (0.06 µg/kg di peso corporeo). Nel 1993 l'Agenzia Internazionale per la Ricerca sul Cancro, ha classificato il DON nel Gruppo 3, cioè come "non classificabile come possibile agente cancerogeno per l'uomo".

## Zearalenone

Lo **Zearalenone** (ZEA) é una tossina prodotta da funghi del genere *Fusarium* (*F. graminearum*, *F. culmorum* e *F. equiseti*). Lo Zearalenone è principalmente presente nel mais ma può riscontrarsi anche in cereali quali orzo, grano, sorgo, miglio e riso. Chimicamente lo Zearalenone è il lattone dell'acido resorcinico e i suoi principali metaboliti sono l'alfa ed il beta Zearalenolo. Questa tossina possiede spiccati effetti estrogenici e diversi studi hanno ipotizzato la sua azione tossica nello sviluppo di patologie quali il telarca. In seguito alla rapida biotrasformazione ed escrezione dello Zearalenone negli animali, l'assunzione giornaliera con la carne e prodotti derivati è da considerarsi trascurabile. Studi hanno dimostrato un modesto trasferimento di questa tossina nel latte vaccino, mentre non è stato riscontrato alcun trasferimento nelle uova. Si deve perciò ritenere che la principale fonte di assunzione di Zearalenone con la dieta siano i cereali ed i prodotti derivati. Il Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) ha stabilito un livello massimo tollerabile provvisorio di assunzione giornaliero per lo Zearalenone ed i suoi metaboliti (incluso l'alfa Zearalenolo) di 0.2 µg/kg per peso corporeo. Questo livello è stato calcolato sulla base di un livello di sicurezza pari a 200 ed un "No observed effect level, NOEL" di 40 µg/kg per peso corporeo al giorno ottenuto in uno studio sui suini. Nel 1993 l'Agenzia Internazionale per la Ricerca sul Cancro, ha classificato lo Zearalenone nel Gruppo 3, cioè come "non classificabile come agente cancerogeno per l'uomo".