



ISTISAN CONGRESSI 19 | C4

ISSN: 0393-5620 (cartaceo) • 2384-857X (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

RIASSUNTI

A cura di
C. Brera, B. De Santis, F. Debegnach,
E. Gregori e M.C. Barea Toscan



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

RIASSUNTI

A cura di

Carlo Brera, Barbara De Santis, Francesca Debegnach,
Emanuela Gregori e Maria Cristina Barea Toscan

Dipartimento di Sicurezza Alimentare, Nutrizione e Sanità Pubblica Veterinaria

ISSN 0393-5620
ISTISAN Congressi
19/C4

Istituto Superiore di Sanità

IV Congresso Nazionale. Micotossine e Tossine Vegetali nella filiera agro-alimentare. Nobile Collegio Chimico Farmaceutico, Roma, 10 giugno 2019 e Istituto Superiore di Sanità, Roma, 11-12 giugno 2019. Riassunti.

A cura di Carlo Brera, Barbara De Santis, Francesca Debegnach, Emanuela Gregori e Maria Cristina Barea Toscan

2019, xi, 73 p. ISTISAN Congressi 19/C4

Il Congresso si articola in sessioni che hanno lo scopo di presentare 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 ed in generale tutti gli operatori del Servizio Sanitario Nazionale e della filiera agro-alimentare 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 and Istituto Superiore di Sanità, Rome, June 11-12, 2019. Abstract book.

Edited by Carlo Brera, Barbara De Santis, Francesca Debegnach, Emanuela Gregori and Maria Cristina Barea Toscan

2019, xi, 73 p. ISTISAN Congressi 19/C4 (in Italian and in English)

The Congress is structured in sessions aimed at focusing 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 organisation. Since 2004 the National Congress has been held at the Istituto Superiore di Sanità (ISS, the National Institute of Health) 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.

Keywords: Mycotoxins, Plant toxins, Risk analysis, Exposure assessment, Analysis, Sampling.

Responsabili scientifici: Carlo Brera e Nausicaa Orlandi

Per informazioni su questo documento scrivere a: carlo.brera@iss.it

Citare questo documento come segue:

Brera C, De Santis B, Debegnach F, Gregori E, Barea Toscan MC (Ed.). *IV Congresso Nazionale. Micotossine e Tossine Vegetali nella filiera agro-alimentare. Roma, 10-12 giugno 2019. Riassunti.* Roma: Istituto Superiore di Sanità, 2019 (ISTISAN Congressi 19/C4).

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

Registro della Stampa - Tribunale di Roma n. 119 del 16/5/2014 (cartaceo) e n. 120 del 16/5/2014 (online)

Direttore Responsabile della serie: *Paola De Castro*

Redazione: *Patrizia Mochi, Katia Colombo e Cristina Gasparrini*

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

© Istituto Superiore di Sanità 2019

Viale Regina Elena, 299 – 00161 Roma



INDICE

Programma	iii
Relatori e moderatori	ix
Note per la consultazione	xi
Comunicazioni orali	1
Sessione Poster Lunedì 10 giugno 2019	41
Sessione Poster Martedì 11 giugno 2019	59
Indice degli autori	71

PROGRAMMA

Lunedì 10 giugno 2019

Nobile Collegio Chimico Farmaceutico

08.00 Registrazione dei partecipanti

09.00 Indirizzo di benvenuto

Umberto Agrimi

Direttore Dipartimento di Sicurezza Alimentare,
Nutrizione e Sanità Pubblica Veterinaria

Nausicaa Orlandi

Presidente Federazione Nazionale degli Ordini dei Chimici e dei Fisici

Prima sessione:

METODI DI ANALISI

Moderatori: **Francesca Debegnach e Michelangelo Pascale**

09:20 *Update of CEN activities on mycotoxins and plant toxins determination*
Martin Spanjer

09:50 *Ruolo dell'EURL e LNR Micotossine e tossine vegetali*
Carlo Brera

10:10 *Studio di validazione interlaboratorio per la determinazione dell'Ocratossina A in prodotti a base di carne suina*
Emanuela Gregori

10:30 *Determinazione di Aflatossine e Ocratossina A in fluidi biologici in LC-HRMS*
Francesca Debegnach

10:50 Coffee break

11:20 *Valutazione e confronto delle caratteristiche analitiche di test rapidi per la determinazione dell'Aflatossina M₁ nel latte in accordo con il Regolamento (EU) n. 519/2014*
Veronica Lattanzio

11:40 *Sistemi lab-on-chip per la determinazione in-situ di micotossine e funghi*
Francesca Costantini

- 12:00 *Certificazione di materiali di riferimento nell'analisi delle micotossine*
Giovanna Zappa
- 12:20 *Il Campionamento: tra problematiche applicative delle norme e strumentazioni ad-hoc*
Michela Menicagli
- 12:40 *Determinazione della moniliformina mediante cromatografia con ioni La^{3+} in fase mobile*
Terenzio Bertuzzi
- 13:00 *Validazione del Lateral Flow & del test ELISA per la quantificazione di Aflatossina M_1 & B_1*
Jésus Romero Assensio
- 13:20 Pranzo – Sessione Poster
- 16:30 Discussione dei temi trattati e chiusura della giornata
- 20:30 Cena sociale

Martedì 11 giugno 2019

Istituto Superiore di Sanità

- 08.00 Registrazione dei partecipanti
- 09.00 Indirizzo di benvenuto
Silvio Brusaferrò
Presidente Istituto Superiore di Sanità
- 09:15 *Presentazione delle finalità del Congresso: criticità ancora esistenti*
Carlo Brera

Prima sessione:

GESTIONE DEL RISCHIO

Moderatori: Carlo Brera e Monica Capasso

- 09:30 *Piano nazionale di controllo ufficiale sulle micotossine degli alimenti. Anni 2016-2018*
Gaetana Ferri

- 09:50 *La gestione del rischio micotossine attraverso i più moderni sistemi di gestione per la sicurezza alimentare*
Daniela Maurizi
- 10:10 *Aflatossina M₁ nei prodotti lattiero-caseari: individuazione dei criteri per la definizione dei fattori di concentrazione*
Gilberto Giangolini
- 10:30 *Interazione tra funghi tossigeni e previsione di copresenza di micotossine nei prodotti vegetali*
Paola Battilani
- 10:50 Coffee break
- 11:20 *An overview on the updated EU legislation on mycotoxins and plant toxins*
Frans Verstraete
- 11:50 *Strategie operative per la mitigazione del rischio da micotossine: progressi e criticità*
Amedeo Reyneri
- 12:10 *Micotossine: aspetti mercantili e costi dell'autocontrollo nei Centri di stoccaggio cereali dell'Emilia-Romagna*
Andrea Villani e Gianni Baccarini
- 12:30 *Monitoraggio di Alcaloidi Pirrolizidinici in mieli di origine nazionale ed estera*
Elisabetta Caprai
- 13:00 Pranzo - Sessione poster

Seconda sessione:

GESTIONE DEL RISCHIO

Moderatori: Nausica Orlandi, Mario Piccialuti

- 14:10 *Il rischio micotossine: una possibile soluzione per il mais*
Rolando Manfredini
- 14:30 *Micotossine e garanzia della sicurezza alimentare lungo tutta la filiera: dal campo al consumo finale*
Mauro Fontana

- 14:50 *Azioni integrate ed innovative per la gestione delle micotossine:
il progetto MycoKey, un esempio efficace di dialogo UE-Cina*
Antonio Logrieco
- 15:10 *Raccolta e gestione dati sulle micotossine in EFSA e miglioramento
della qualità del dato per l'esposizione*
Stefano Cappè
- 15:30 *Fattore di concentrazione dell'Aflatossina M₁ nella caciotta bovina da latte
naturalmente contaminato*
Ivan Pecorelli
- 15:50 *Micotossine e tossine vegetali: criticità nel settore molitorio*
Lorenzo Cavalli
- 16:10 *Rete Qualità Mais*
Sabrina Locatelli
- 16:30 *Innovazioni per il controllo delle micotossine nei cereali vernini*
Massimo Blandino
- 16:50 Discussione dei temi trattati e chiusura della giornata

Mercoledì 12 giugno 2019

Istituto Superiore di Sanità

- 08.00 Registrazione dei partecipanti

Prima sessione:

VALUTAZIONE DEL RISCHIO

Moderatori: Barbara De Santis e Dario Dongo

- 09:00 *Plant toxins: is there a concern for human health due to the presence
of alkaloids in food*
Katleen Baert
- 09:30 *La valutazione del rischio nel Sistema nazionale italiano:
organizzazione e attività*
Daniela Rodorigo

- 09:50 *Valutazione dell'esposizione del consumatore alle micotossine: analisi dei dati NSIS 2016-2017*
Carlo Brera
- 10:10 *Approccio probabilistico per la valutazione dell'esposizione al Deossinivalenolo*
Barbara De Santis
- 10:30 *EFSA's recent risk assessments on Fusarium toxins and their modified form*
Katleen Baert
- 11:00 Coffee break
- 11:20 *Il dato di consumo nella valutazione dell'esposizione a sostanze contaminanti: ruolo e criticità*
Aida Turrini
- 11:40 *Ruolo degli studi di biomonitoraggio nella valutazione dell'esposizione alle micotossine: i Progetti BIODAF e HBM4EU*
Barbara De Santis
- 12:10 *La valutazione del rischio di tossicità derivante da miscele di micotossine: l'approccio MYCHIF*
Paola Battilani
- 12:30 *Ricerca e sviluppo di una farina innovativa destinata ai bambini di seconda e terza infanzia*
Carlo Brera
- 12:50 *La percezione del rischio del consumatore alle micotossine e tossine vegetali*
Agostino Macrì
- 13:10 Discussione dei temi trattati e chiusura della giornata

RELATORI E MODERATORI

Gianni Baccarini	Consorzio Quadra, Bologna
Katleen Baert	European Food Safety Authority, Parma
Paola Battilani	Università Cattolica del Sacro Cuore, Piacenza
Terenzio Bertuzzi	Università Cattolica del Sacro Cuore, Piacenza
Massimo Blandino	Università degli Studi, Torino
Carlo Brera	Istituto Superiore di Sanità, Roma
Monica Capasso	Ministero della Salute, Roma
Stefano Cappè	European Food Safety Authority, Parma
Elisabetta Caprai	Istituto Zooprofilattico Sperimentare Lombardia-Emilia-Romagna, Brescia
Lorenzo Cavalli	Associazione Nazionale Tecnici Industria Molitoria, Roma
Francesca Costantini	Sapienza Università di Roma, Roma
Barbara De Santis	Istituto Superiore di Sanità, Roma
Francesca Debegnach	Istituto Superiore di Sanità, Roma
Dario Dongo	Food and Agricolture, Roma
Gaetana Ferri	Ministero della Salute, Roma
Mauro Fontana	Ferrero, Alba, Cuneo
Gilberto Giangolini	Istituto Zooprofilattico Sperimentale Lazio-Toscana, Roma
Emanuela Gregori	Istituto Superiore di Sanità, Roma
Veronica Lattanzio	Consiglio Nazionale delle Ricerche, Bari
Sabrina Locatelli	Centro di Ricerca Cerealicoltura e Colture Industriali, Bergamo
Antonio Logrieco	Consiglio Nazionale delle Ricerche, Bari
Agostino Macri	Unione Nazionale Consumatori, Roma
Rolando Manfredini	Coldiretti, Roma
Daniela Maurizi	Federazione Nazionale degli Ordini dei Chimici e dei Fisici, Roma
Michela Menicagli	Cometec Group, Livorno
Nausicaa Orlandi	Federazione Nazionale degli Ordini dei Chimici e dei Fisici, Roma
Michelangelo Pascale	Consiglio Nazionale delle Ricerche, Bari
Ivan Pecorelli	Istituto Zooprofilattico Sperimentale Umbria-Marche, Perugia

Mario Piccialuti	Unione Italiana Food, Roma
Amedeo Reyneri	Università degli Studi Guagnasco, Torino
Daniela Rodorigo	Ministero della Salute, Roma
Jèsus Romero Assensio	LILCAM, Toledo
Martin Spanjer	European Committee for Standardization, Utrecht
Aida Turrini	Centro di Ricerca Cerealicoltura e Colture Industriali, Roma
Frans Verstraete	DG SANTE Commissione Europea, Bruxelles
Andrea Villani	A.G.E.R. Borsa Merci, Bologna
Giovanna Zappa	ENEA, Roma

NOTE PER LA CONSULTAZIONE

Il presente libro raccoglie tutti i contributi presentati al Congresso. I lavori sono divisi in Comunicazioni orali e Poster.

Per comodità di consultazione, i riassunti delle Comunicazioni orali afferenti a tutte le giornate del Congresso, sono state raccolte secondo l'ordine del programma. I poster sono presentati secondo la giornata di affissione e l'ordine alfabetico del primo autore e sono contrassegnati da una lettera "P" seguita da un numero che indica la collocazione.

Alla fine del volume è incluso un indice degli autori.

Comunicazioni orali

UPDATE OF CEN ACTIVITIES ON MYCOTOXINS AND PLANT TOXINS DETERMINATION

Spanjer M.C.

Dutch Food and Consumer Protection Authority, Division Tactical Direction & Expertise, Department Expertise, Team Industrial Production and Convenor of CEN, Amsterdam, Olanda

CEN is the European Committee for Standardization, which is the association that brings together the National Standardization Bodies of 33 European countries. It is officially recognized by the European Union and by the European Free Trade Association (EFTA) as being responsible for developing and defining voluntary standards at European level. CEN supports standardization activities in relation to a wide range of fields and sectors including: air and space, chemicals, construction, consumer products, defense and security, energy, the environment, food and feed, health and safety, healthcare, ICT, machinery, materials, pressure equipment, services, smart living, transport and packaging.

The core business of CEN is to develop and publish European standards and technical specifications that meet the needs of European businesses and other organizations. This brings concrete benefits, such as: improving safety, quality and reliability of products, services, processes; reinforcing the Single Market and supporting the economic growth and the spread of new technologies and innovation. In order to prepare and produce state-of-the-art standards, CEN relies on the knowledge of ca. 60,000 experts, who participate in various technical activities through a network of 50 National Standardization Bodies (33 Members plus 17 Affiliates) and continuously cooperate with different stakeholders, including consumers, industry and SMEs. As to facilitate international trade the cooperation between CEN and the International Organization for Standardization (ISO) is provided by the Vienna Agreement. It arranges the exchange of information between ISO and CEN, mutual representation at meetings and parallel approval of standards.

Regarding mycotoxins CEN works with mandates of the European Commission since 2006. In a first mandate 9 standards were developed for mycotoxins for which maximum limits are given in standing EU legislation. The 10th item of the first mandate was a technical report containing performance criteria for single laboratory validated methods. The second mandate, which finishes this year, included 9 methods regarding mycotoxins that are not yet regulated, but discussed in Brussels, and 2 multimethods.

The presentation will summarize how the work is organized, what results are achieved and perspectives for a future mandate, mainly for standardizing plant toxins.

RUOLO DELL'EURL E LNR MICOTOSSINE E TOSSINE VEGETALI

Brera C., Debegnach F., Gregori E., De Santis B.

Dipartimento di Sicurezza Alimentare, Nutrizione e Sanità Pubblica Veterinaria, Istituto Superiore di Sanità, Roma

In accordo all'articolo del nuovo Regolamento 625/2017, dal 1 marzo 2018, è operativo il nuovo Laboratorio Comunitario di riferimento per le Micotossine e Tossine Vegetali (EURL) negli alimenti e mangimi, presso il RIKILT (Istituto nazionale e di qualità per i prodotti agricoli e orticoli) sito presso la Wageningen University & Research (<https://www.wur.nl/en/Research-Results/Research-Institutes/rikilt/Reference-Laboratory/European-Union-Reference-Laboratory-1/About-EURL-mycotoxins-plant-toxins.htm>).

Tra le principali attività si riportano la stretta collaborazione e supporto ai lavori della Commissione Europea per lo sviluppo della normativa, lo sviluppo e validazione di metodi di analisi, un efficiente *networking* con gli LNR della UE, l'organizzazione di *proficiency testing* e studi interlaboratorio di validazione, l'organizzazione di workshops e corsi di formazione, ed un'azione di supporto per i laboratori operanti nell'Unione ed extraeuropei. Nella presentazione si darà un quadro delle attività dell'EURL programmate per il biennio 2019-2020.

Parallelamente all'EURL, agisce in Italia l'omologo Laboratorio Nazionale di Riferimento (LNR) per le micotossine, sito presso l'Istituto Superiore di Sanità (<http://old.iss.it/mico/index.php?lang=1>). È in via di definizione la designazione dell'LNR per le Tossine Vegetali.

Le attività ed il ruolo dell'LNR sono del tutto speculari a quelli dell'EURL, e sono caratterizzati dalla necessità di garantire ai laboratori ufficiali operanti sul territorio la piena armonizzazione dei criteri alla base della produzione del dato analitico, vale a dire l'individuazione delle migliori caratteristiche di efficienza (*best performance characteristics*) dei metodi di analisi, la corretta interpretazione della normativa vigente, l'organizzazione di studi interlaboratorio, la pre-validazione dei dati analitici di prima istanza, il trasferimento delle informazioni ricevute dall'EURL, nonché il supporto all'Autorità Competente nazionale in merito a questioni sia tecniche sia legate alla sicurezza d'uso dei prodotti alimentari.

Nella presentazione si darà un quadro delle attività dell'LNR programmate per il biennio 2019-2020.

STUDIO DI VALIDAZIONE INTERLABORATORIO PER LA DETERMINAZIONE DELL'OCRATOSSINA A IN PRODOTTI A BASE DI CARNE SUINA

De Santis B., Gregori E., Debegnach F., Moracci G., Barea Toscan M.C., Brera C.
*Dipartimento di Sicurezza Alimentare, Nutrizione e Sanità Pubblica Veterinaria, Istituto
Superiore di Sanità, Roma*

Nel 2013 il Comitato Europeo di Normazione (CEN) ha avuto dall'Unione Europea il mandato M/520 per la definizione di metodi standardizzati per la determinazione delle micotossine negli alimenti. All'interno di tale mandato è stato assegnato al Laboratorio Nazionale di Riferimento per le Micotossine italiano (LNR), il compito di produrre lo studio di validazione interlaboratorio per la determinazione dell'Ocratossina A (OTA) in prodotti a base di carne suina. A tale scopo, l'LNR ha messo a punto, in diversi prodotti a base di carne suina (prosciutto crudo, carne macinata, fegato, paté, rene e polmone) un metodo analitico basato su un'estrazione idroalcolica, seguita da purificazione con colonnine di immunoaffinità e analisi strumentale in HPLC con rivelazione fluorimetrica. Il metodo proposto è stato validato secondo l'approccio *in-house* soddisfacendo pienamente i requisiti di legge stabiliti dal Regolamento (CE) n.401/2006 e dimostrando la sua applicabilità nelle diverse matrici.

Nella seconda fase del progetto è stato organizzato lo studio di validazione interlaboratorio. Il reperimento dei materiali, naturalmente contaminati e non, è stato seguito dalla caratterizzazione dei materiali selezionati e dagli studi di omogeneità e stabilità. I materiali selezionati sono stati: tre livelli di prosciutto crudo, un campione di fegato e un prodotto a base di carne tritata.

Lo studio di validazione interlaboratorio, iniziato a maggio 2016, ha visto la partecipazione di ben 21 laboratori, fra cui 14 laboratori internazionali, di cui 9 extra UE, e 6 laboratori italiani, selezionati fra i laboratori che effettuano il controllo ufficiale sul territorio italiano. I risultati raggiunti dallo studio di validazione interlaboratorio sono stati più che soddisfacenti confermando la bontà del metodo proposto che sarà pubblicato come metodo standardizzato con il titolo "*Method for the determination of ochratoxin A in ham and pork based products (IAC clean up and FLD-HPLC detection)*".

DETERMINAZIONE DI AFLATOSSINA E OCRATOSSINA A IN FLUIDI BIOLOGICI DA LC-HRMS

Brera C. (a), Debegnach F. (a), Sonogo E. (a), Mazzilli G. (a), Buiarelli F. (b), De Santis B. (a)

(a) *Dipartimento di Sicurezza Alimentare, Nutrizione e Sanità Pubblica Veterinaria, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

(b) *Dipartimento di Chimici, Università La Sapienza, Roma*

Lo sviluppo di nuovi metodi di analisi per le micotossine si è recentemente orientato verso un approccio multi-analita associato alla determinazione in spettrometria di massa. L'analisi dei biomarcatori, intesi come la tossina tal quale o i suoi metaboliti, rappresenta un campo di applicazione di interesse, in particolare quando la determinazione viene eseguita tramite la spettrometria di massa ad alta risoluzione.

Il lavoro presenta lo sviluppo e la validazione di metodi per l'analisi in LC-HRMS di micotossine e loro metaboliti in campioni di urina e siero, nell'ambito di un progetto EFSA (BIODAF) sulla valutazione dell'esposizione professionale.

In particolare, per le urine è stato testato un approccio dilute&shoot per l'analisi di AFB₁, AFM₁ e AFB₁-N7-Guanina. I valori di LOD/LOQ sono stati successivamente abbassati includendo un passaggio di purificazione su colonna di immunoaffinità. Il metodo per l'analisi dei sieri ha incluso l'AFB₁, AFB₁-Lisina e l'OTA.

Durante il processo di validazione sono stati individuati il LOD e il LOQ, quest'ultimo è stato incluso nei livelli di concentrazione su cui è stata effettuata la validazione, inoltre la linearità è stata verificata nel campo di applicazione dei metodi. La giustezza è stata stimata, attraverso esperimenti di fortificazione, con il calcolo del recupero apparente. I valori ottenuti sono stati 101% e 98% per AFB₁ and AFM₁, nelle urine, e 55% e 61% per AFB₁ e OTA, nel siero. La precisione è stata valutata attraverso il calcolo della deviazione standard relativa ottenuta dalle ripetizioni di analisi. I valori ottenuti sono stati 7% e 11% per AFB₁ e AFM₁, nelle urine, e 11% e 9% per AFB₁ e OTA, nel siero. L'effetto sull'intensità del segnale dovuto alla presenza della matrice (SSE) è stato valutato tra l' 82 e il 111% per le urine (metodo dilute&shoot) e tra l' 82 e il 96% per AFB₁ e OTA nel siero.

I risultati ottenuti sono stati giudicati positivamente. Inoltre, l'utilizzo degli standard interni marcati per la quantificazione dei campioni rende questi metodi particolarmente idonei per la determinazione delle micotossine e dei loro metaboliti nei campioni di fluidi biologici caratterizzati da composizioni a volte anche molto diverse.

Aknowledgements - This research was funded by EFSA:GP/EFSA/AFSCO/2017 /05PERFORMANCE: International Conference "The Burden of Mycotoxins on animal and human health" and Research Project "Biomonitoring data as a tool for assessing aflatoxin B1 exposure of workers – BIODAF".

VALUTAZIONE E CONFRONTO DELLE CARATTERISTICHE ANALITICHE DI TEST RAPIDI PER LA DETERMINAZIONE DELL'AFATOSSINA M₁ NEL LATTE IN ACCORDO CON IL REGOLAMENTO (EU) N. 519/2014

Guarducci N. (a), von Holst C. (b), Pecorelli I. (c), Bibi R. (c), Pascale M. (a), Logrieco A.F. (a), Lattanzio V.M.T. (a)

(a) *Consiglio Nazionale delle Ricerche, Istituto di Scienze delle Produzioni Alimentari, Bari*

(b) *European Commission, DG Joint Research Centre, Geel, Belgio*

(c) *Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche, Perugia*

A seguito della normativa vigente che fissa un limite massimo consentito di 50 ng/kg per l'Aflatossina M₁ nel latte (Regolamento (CE) n. 1881/2006), esiste la necessità da parte degli operatori del settore lattiero-caseario di dotarsi di strumenti di autocontrollo, per ottenere in tempi brevi indicazioni quantitative sulla eventuale contaminazione, consentendo un rapido processo decisionale. Quando validati in accordo con linee guida ufficiali, come quelle definite nel Regolamento (EU) n. 519/2014, i metodi di screening semiquantitativo possono essere utilizzati a supporto del già consolidato sistema europeo dei controlli per la sicurezza alimentare, che attualmente è basato principalmente su tecniche sofisticate che richiedono strumentazione costosa e personale esperto.

Obiettivo di questo studio è stato quello di valutare e confrontare le prestazioni analitiche degli immunosaggi commerciali attualmente più diffusi per la determinazione rapida dell'Aflatossina M₁ nel latte, ovvero test immunocromatografici a flusso laterale (*latera flow devices*, LFD) e test enzimatici (*enzyme-linked immunosorbent assay*, ELISA).

Prestazioni analitiche quali precisione (ripetibilità e precisione intermedia), cut-off, percentuale di falsi sospetti e falsi negativi sono state valutate per ciascun immunosaggio attraverso uno studio di validazione effettuato a livelli di Aflatossina M₁ di 0, 25, 50, 75 ng/kg, fissando la concentrazione bersaglio (*screening target concentration*, STC) a 50 ng/kg. I due immunosaggi hanno mostrato caratteristiche analitiche simili in termini di cut-off (37,7 ng/kg e 39,4 ng/kg per LFD e ELISA rispettivamente), percentuale di falsi sospetti per campioni non contaminati (<0,1% in entrambi i test) e falsi negativi per campioni contenenti Aflatossina M₁ a valori al di sopra della STC (0,3% per entrambi i test). La percentuale di falsi sospetti per campioni contaminati a 25 ng/kg (25% della STC) è risultata di 3% e 23% per LFD e ELISA rispettivamente. Valori confrontabili sono stati ottenuti anche per la precisione intermedia, che per tutti i livelli di validazione è risultata essere ≤19% per LFD e ≤24 per ELISA. È stato inoltre osservato un buon accordo tra i risultati ottenuti con i due immunosaggi validati e quelli ottenuti con la metodica di riferimento (AOAC Official Method 2000.08) nell'analisi di campioni di latte di vacca contaminati da Aflatossina M₁ nell'intervallo compreso tra n.d. (<0,5 ng/kg) e 50 ng/kg. Occorre infine considerare che negli ambiti di applicazione dei metodi di screening semiquantitativo, la valutazione della idoneità allo scopo include non solo le suddette

prestazioni analitiche, ma anche parametri di natura pratica come rapidità, facilità di implementazione da parte di utenti inesperti e flessibilità, ovvero la potenzialità di essere estesi ad altre tipologie di campione senza alcuna modifica da parte dell'operatore. Verranno quindi presentate alcune considerazioni critiche sulla idoneità allo scopo delle due metodiche validate, basate sui dati ottenuti in fase di validazione.

SISTEMI LAB-ON-CHIP PER LA DETERMINAZIONE IN SITU DI MICOTOSSINE E FUNGHI

Costantini F. (a,b), Lovecchio N. (b), Reverberi M. (c), Manetti C. (c), de Cesare G. (b), Nascetti A. (d), Caputo D. (b)

(a) *Dipartimento di Chimica, Sapienza Università di Roma, Roma.*

(b) *Dipartimento di Ingegneria dell'Informazione, Elettronica e delle Telecomunicazioni, Sapienza Università di Roma, Roma*

(c) *Dipartimento di Biologia Ambientale, Sapienza Università di Roma, Roma*

(d) *Scuola di Ingegneria Aerospaziale, Sapienza Università di Roma, Roma*

I dispositivi *Lab-on-Chip* basati su network di canali microfluidici con integrati sistemi di rivelazione e di trattamento del campione hanno ricevuto molta attenzione negli ultimi anni per applicazioni analitiche nel campo della sensoristica. I sistemi microfluidici possono migliorare le prestazioni generali dei sistemi analitici basati su biosensori in termini di tempo e accuratezza nella quantificazione dell'analita. La motivazione principale è certamente quella di migliorare il trasporto dell'analita dal volume del campione all'elemento di riconoscimento quali sensori a DNA o anticorpi, in particolare se legati alla superficie del canale. Inoltre, le dimensioni e i volumi ridotti dei canali microfluidici consentono innanzitutto di lavorare con un campione molto inferiore rispetto a quello che altrimenti potrebbe essere utilizzato, rendendo possibile l'analisi di gocce o persino il contenuto di singole cellule. Infine, ma non meno importante, l'integrazione dei sistemi di rivelazione e di trattamenti del campione con il network microfluidico rendono possibile la realizzazione di dispositivi portatili che permettono l'analisi direttamente sul campo o *Point Of Care* (POC).

Nell'ambito di questa ricerca, diversi dispositivi *Lab-on-chip* portatili sono stati realizzati integrando sensori e attuatori in silicio amorfo con canali microfluidici per due tipi di analisi: (i) dispositivi con immobilizzati aptameri per la determinazione e quantificazione di Ocratossina A in derrate alimentari quali birra e grano e (ii) l'amplificazione del DNA (PCR-on-Chip) come potenziale tecnica per determinare sequenze specifiche di funghi e batteri. Entrambi i dispositivi sono stati utilizzati con matrici reali e hanno dimostrato limiti di rivelabilità comparabili ai sistemi analitici standard utilizzati in laboratorio. Inoltre, la portabilità dei dispositivi permette il loro utilizzo direttamente sul campo con miglioramento delle analisi in termini di tempo e di costi e con il conseguente incremento della qualità dei prodotti della filiera agro-alimentare.

IL CAMPIONAMENTO: TRA PROBLEMATICHE APPLICATIVE DELLE NORME E STRUMENTAZIONI AD-HOC

Menicagli M.
Cometec Group S.r.l, Livorno

I prodotti cerealicoli utilizzati in Italia sono in gran parte di origine estera. L'introduzione delle merci estere nel territorio nazionale presenta molteplici aspetti problematici.

Noi andremo ad analizzare solo ciò che riguarda i controlli qualitativi sui prodotti trasportati via terra, dove risulta fondamentale l'esigenza di campionare ed analizzare le merci prima dell'introduzione nel territorio Italiano. Un servizio di auto-controllo che gli importatori italiani affidano a Surveyor specializzati, dove la tracciabilità delle analisi effettuate garantisce la qualità della filiera agroalimentare.

La relazione focalizza l'attenzione sulla difficoltà di applicazione dei regolamenti vigenti in materia di campionamento, evidenziando il ruolo delle strumentazioni indicate, spesso non idonee, negli interventi al carico, dove la rapidità e la correttezza del campionamento associata all'immediatezza dei risultati analitici, diventano essenziali, intrecciando interessi commerciali ad aspetti igienico-sanitari.

In questa direzione, lo studio si snoda su:

- il monitoraggio delle condizioni climatiche di ciascun paese, che consentano di prevedere le diverse difettosità delle merci, specie per l'aspetto sanitario, come micotossine, semi nocivi, ecc.;
- l'utilizzo di nuove sonde, che permettono di ottenere campioni più omogenei e rappresentativi la partita campionata, considerando i luoghi d'intervento, i mezzi di trasporto che verranno utilizzati, le passate esperienze e le problematiche merceologiche previste, rispettando comunque i regolamenti;
- più di 10.000 analisi annue di micotossine, effettuate con metodi veloci validati, che comunque teniamo controllati con analisi di campioni gemelli effettuate presso laboratori accreditati.

Differenze analitiche su campioni della stessa partita, prelevati con strumenti diversi.

Ne risulta, che, al variare delle zone di approvvigionamento, delle influenze climatiche sulle diverse *commodities*, dalle logistiche nei trasporti, il nostro obiettivo rimane garantire la qualità dei prodotti agroalimentari, attraverso lo studio di soluzioni di campionamento con metodologie applicative e strumentazioni appropriate.

DETERMINAZIONE DELLA MONILIFORMINA MEDIANTE CROMATOGRAFIA CON IONI La^{3+} IN FASE MOBILE

Bertuzzi T., Rastelli S., Mulazzi A., Pietri A.

Dipartimento di Scienze Animali, della Nutrizione e degli Alimenti, Università Cattolica del Sacro Cuore, Piacenza

La Moniliformina (MON) è una *Fusarium* tossina, spesso presente nei cereali; è principalmente prodotta da *F. avenaceum*, *F. proliferatum*, *F. subglutinans*, *F. tricinctum* e *F. verticilloides*. MON è una molecola a basso peso molecolare e altamente polare; inoltre, a causa del suo basso pK_a ($<1,7$), è presente in acqua come sale di Na o di K. MON è risultata tossica su animali, causando degenerazione del miocardio, debolezza muscolare e patologie respiratorie; l'EFSA ha segnalato ematossicità e cardiotoxicità come principali effetti negativi sulla salute (EFSA Panel Contam, 2018). La stessa Commissione ha raccomandato lo sviluppo di metodi analitici validati per la sua determinazione.

A causa della sua natura ionica, MON è debolmente trattenuta dalle più comuni fase stazionarie usate nella cromatografia in fase inversa; la sua determinazione può essere effettuata con la formazione di coppie ioniche o utilizzando fasi stazionarie specifiche per composti polari. Anche la cromatografia HILIC è stata utilizzata, non ottenendo sempre risultati soddisfacenti.

In questo lavoro è stato valutato un nuovo approccio cromatografico, basato sull'interazione tra l'analita e un legante aggiunto alla fase mobile. Oltre alla sua natura ionica, MON è un α -di-chetone (1-idrossiciclobut-1-ene-3,4-dione). Questi composti organici possono formare complessi con gli ioni dei metalli lantanidi, come La^{3+} , Tb^{3+} o Eu^{3+} ; generalmente, tre di-chetoni si legano a uno ione metallico. Si è quindi valutato se l'aggiunta di un sale di Lantanio nella fase mobile potesse migliorare la separazione cromatografica e la successiva determinazione mediante rivelazione UV e spettrometria di massa. Utilizzando una fase eluente acetonitrile:5 mM $\text{LaCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ e una colonna RP-ammino, si è osservato come l'aggiunta del sale di Lantanio influenzi notevolmente la separazione cromatografica, anticipando l'uscita della micotossina (in questo caso fortemente trattenuta dalla colonna ammino nelle normali condizioni cromatografiche); aumentando o diminuendo la concentrazione dello ione La^{3+} o il rapporto tra la soluzione acquosa e acetonitrile, ne viene significativamente modificato il tempo di ritenzione. Infine, applicando un'estrazione e successiva purificazione mediante tecnica Quechers, è stato sviluppato un semplice metodo analitico per la determinazione della MON.

VALIDAZIONE DEL LATERAL FLOW & DEL TEST ELISA PER LA QUANTIFICAZIONE DI AFLATOSSINA M₁ & B₁

Romero Assensio J.

Laboratorio di LILCAM Talavera De La Reina, Talavera De La Reina, Spagna

Le Aflatossine (AF) sono metaboliti tossici di grande interesse per l'industria alimentare, generalmente prodotte da *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus* e *A. nomius*. Possono avere effetti immunosoppressivi, mutageni, teratogeni e cancerogeni. Le aflatossine possono essere presenti nei grani, nei cereali e negli altri prodotti associati all'alimentazione dei bambini. Le colture possono essere contaminate con AFB₁. AFB₁ è la forma più tossica e frequentemente rilevata. Le aflatossine se ingerite tramite il foraggio contaminato da bestiami da latte, sono biotrasformate in sede epatica in AFM₁. L'AFM₁ in seguito viene secreta nel latte destinato al consumo umano diretto, ma anche in tutti i prodotti lattiero-caseari. La presenza dell'AFM₁ nel latte e nei suoi derivati è considerata capace di comportare determinati rischi per la sanità mettendo a rischio la salute del consumatore e di conseguenza il limite stabilito dall'UE è molto basso sui 0,05 µg/kg (50ppt). La determinazione accurata e rapida della presenza di aflatossine nelle materie prime è di fondamentale importanza.

Lo scopo del presente studio è stato quello di valutare la quantificazione dell'AFM₁ nei campioni di latte e l'AFB₁ nei campioni di mais, usando il metodo Lateral Flow immunocromatografico ed ELISA.

I livelli dell'AFM₁ nei campioni di latte e l'AFB₁ nei campioni di mais sono stati determinati mediante il Symmetric M1 / S2148 / S2148041 e Symmetric B1 ES / S3148 / S3148005 in caso di Lateral Flow e Bio-Shield M1 ES / B2096 / B2096071 e Bio-Shield B1 ES / B2996 / B2996038 in caso di ELISA. Per quanto riguarda la tecnologia Symmetric Lateral flow, dopo il flusso, utilizzando il software S-Flow, le micotossine (AFM₁ o AFB₁) sono state accuratamente quantificate.

Diversi campioni spikati e materiali di riferimento sono stati utilizzati. Inizialmente, le micotossine sono state analizzate mediante la tecnologia Lateral Flow. In seguito, i risultati sono stati confrontati con quelli ottenuti con il metodo ELISA. In ogni caso è stato dimostrato che i livelli di recupero sono eccellenti.

La tecnologia Lateral Flow sembra di essere uno strumento prezioso per la quantificazione dell'AFM₁ e l'AFB₁ altrettanto affidabile come quello di ELISA.

PIANO NAZIONALE DI CONTROLLO UFFICIALE SULLE MICOTOSSINE DEGLI ALIMENTI. ANNI 2016-2018

Ferri G.

Direzione Generale per l'Igiene e la Sicurezza degli Alimenti e la Nutrizione, Ministero della Salute, Roma

Il piano nazionale definito nell'anno 2016 è valevole, a livello nazionale, per il triennio 2016-2018. Esso ha fornito alle Autorità delle Regioni e Province autonome, alle Autorità locali, alle Autorità periferiche (USMAF-SASN) nonché ai laboratori dei controlli ufficiali indicazioni sugli alimenti (e le specifiche micotossine) oggetto di campionamento allo scopo di verificare la conformità al regolamento CE 1881/2006 sui contaminanti, di valutare l'esposizione dei consumatori alle micotossine, di far emergere situazioni critiche che richiedessero una gestione dei rischi a livello centrale. Il piano ha armonizzato, altresì, la raccolta di dati di campionamento e di analisi attraverso l'utilizzo della piattaforma informativa del Ministero della Salute, NSIS (nuovo sistema informativo sanitario nazionale) Alimenti.

I risultati relativi al triennio 2016-2018 hanno evidenziato una percentuale relativamente bassa di alimenti non conformi e decrescente nel corso del triennio. Il maggior numero di alimenti non conformi include la frutta a guscio e prodotti derivati (Aflatossina B₁), la farina di mais (Fumonisine), il latte e i prodotti derivati (Aflatossina M₁).

Il riscontro di campioni di latte e prodotti lattiero-caseari non conformi per l'Aflatossina M₁, in maggior numero rispetto agli altri alimenti, ha portato a programmare, per l'anno 2019, sia campionamenti per il latte e derivati su tutto il territorio nazionale sia a costituire un gruppo di lavoro *ad hoc* (istituti zooprofilattici sperimentali e istituto superiore di sanità) per la corretta applicazione dei limiti massimi di Aflatossina M₁ nei prodotti lattiero-caseari.

I dati dei controlli degli anni 2016 e 2017 sono stati sottoposti alla valutazione dei rischi da parte dell'Istituto superiore di sanità, come previsto dal Piano medesimo. Sulla base delle valutazioni di esposizione non sono emerse situazioni critiche. L'ISS, nei diversi pareri formulati (anni 2016, 2017, 2018), ha evidenziato la possibilità di esposizione totale al DON (Deossinivalenolo) prossima alla soglia tossicologica come pure situazioni di rischio soprattutto per bambini di età 3-9,9 in relazione ad un ipotetico consumo cumulativo degli alimenti. Effettivamente tali affermazioni mancano di una valutazione del rischio estesa che consideri la dieta alimentare, dei diversi gruppi di popolazione (bambini inclusi), nella sua globalità.

Il piano nazionale, infine, ha contribuito ad evidenziare criticità nell'applicazione della norma e, contestualmente, a favorire l'azione di indirizzo e di coordinamento del territorio come allo sviluppo normativo sui contaminanti nell'ambito UE.

LA GESTIONE DEL RISCHIO MICOTOSSINE ATTRAVERSO I PIÙ MODERNI SISTEMI DI GESTIONE PER LA SICUREZZA ALIMENTARE

Maurizi D.

Federazione Nazionale degli Ordini dei Chimici e dei Fisici, Roma

L'analisi del rischio delle materie prime con particolare riferimento alle micotossine è una metodologia puntuale che valuta diversi aspetti. Elementi fondamentali per una corretta valutazione sono: l'origine della materia prima; la sua sensibilità al pericolo considerato; quantità di prodotto e relativo utilizzo; le garanzie che il fornitore è in grado di dare in termini analitici/certificazioni. Da queste considerazioni possono emergere come elementi di uscita delle attività analitiche come anche attività di audit o richieste di certificazione dei fornitori a fronte degli schemi attualmente considerati più robusti come IFS, BRC o FSSC 22000.

L'evoluzione dei sistemi di gestione per la sicurezza alimentare sotto l'attento sguardo del GFSI (Global Food Safety Initiative) ha portato ad una più attenta e puntuale qualificazione dei fornitori e relativa valutazione del rischio per le singole materie prime. Da questo punto di vista una delle novità più importanti era stata introdotto dal BRC versione 7 nel febbraio 2015 successivamente rafforzata con la versione 8 della stessa norma ad agosto 2018. Dall'analisi delle allerte del portale RASFF ma anche di altri sistemi di allerta non europei, così come anche dagli esiti degli audit di 2^a e 3^a parte, era emersa infatti la necessità di un maggiore controllo della supply chain da tutti i punti di vista. Quasi contemporaneamente, nel 2016, una Comunicazione della Commissione Europea rivolta all'autorità competente (2016/C 278/01) *relativa all'attuazione dei sistemi di gestione per la sicurezza alimentare riguardanti i programmi di prerequisiti (PRP) e le procedure basate sui principi del sistema HACCP, compresa l'agevolazione/la flessibilità in materia di attuazione in determinate imprese alimentari*, ha definito e confermato un approccio olistico alla sicurezza alimentare tramite FSMS (Food Safety Management System), cioè un approccio basato sulla sicurezza alimentare con la struttura della ISO 22000 e relative norme tecniche della stessa serie. In questo contesto si è collocato anche il tema delle Food Fraud con un approccio sempre basato sul rischio ovvero una metodologia denominata Vulnerability Assessment Critical Control Points (VACCP).

AFLATOSSINA M₁ NEI PRODOTTI LATTIERO-CASEARI: CRITERI PER LA DEFINIZIONE DEI FATTORI DI CONCENTRAZIONE

Giangolini G. (a), Valiani A. (b)

(a) Centro di Referenza Nazionale per la Qualità del Latte e dei Prodotti Derivati degli Ovini e dei Caprini, Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana, Roma

(b) Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche, Perugia

L'Aflatossina M₁ (AFM₁) può essere presente nel latte in seguito all'ingestione di alimenti contaminati con Aflatossina B₁ (AFB₁). Il Reg. CE 1881/2006 definisce il limite di legge dell'AFM₁ nel latte in 0,050 µg/Kg ed all'art. 2 introduce il concetto di fattori specifici di concentrazione/diluizione per gli alimenti sottoposti a trattamento tecnologico. In Italia non è stato ancora definito un limite per l'AFM₁ per i prodotti lattiero-caseari. Il Ministero della Salute, in base al parere del Comitato Nazionale per la Sicurezza Alimentare n.13 del 10/06/2013, ha raccomandato l'adozione, in via provvisoria, dei seguenti fattori di concentrazione per l'AFM₁: 3.0 per i formaggi a pasta tenera e prodotti dal siero, 5,5 per i formaggi a pasta dura. Lo stesso Ministero ha successivamente indicato i criteri da seguire per la classificazione dei formaggi ai fini dell'applicazione dei due fattori di concentrazione sopra riportati, richiamando la Decisione della Commissione 97/80/CE.

Per meglio definire i criteri normativi a cui riferirsi nel controllo dell'AFM₁ nella filiera lattiero casearia, il Ministero della Salute ha invitato gli Istituti Zooprofilattici e l'Istituto Superiore della Sanità a procedere alla definizione di uno specifico fattore di concentrazione per ciascuna delle categorie di cui alla Decisione della Commissione 97/80/CE, ad individuare un criterio alternativo per la classificazione dei formaggi rispetto a quello di cui alla decisione sopra riportata ed a collaborare per la condivisione di studi sperimentali al fine di ottenere validi fattori di concentrazione.

Per dare seguito a quanto richiesto dal Ministero, 7 Istituti Zooprofilattici (IZS Lazio e Toscana, IZS Umbria e Marche, IZS Lombardia ed Emilia Romagna, IZS Piemonte, Liguria e Valle D'Aosta, IZS delle Venezie, IZS Puglia e Basilicata, IZS Sardegna) e l'Istituto Superiore della Sanità hanno costituito un gruppo di lavoro.

Il gruppo di lavoro inizierà dall'esame della bibliografia disponibile e dalla classificazione dei prodotti lattiero-caseari in base al tasso di umidità della materia sgrassata (MFFB) (Decisione 97/80/CE), per selezionare alcuni prodotti che possano rappresentare le diverse categorie di formaggi, al fine di definire per ogni categoria, i relativi fattori di concentrazione per l'AFM₁. In caso di necessità saranno eseguite ulteriori prove sperimentali a cura degli IZZSS.

INTERAZIONE TRA FUNGHI TOSSIGENI E PREVISIONE DI CO-PRESENZA DI MICOTOSSINE NEI PRODOTTI VEGETALI

Battilani P. (a), Camardo Leggieri M. (a), Bertuzzi T. (b), Giorni P. (a)

(a) *Dipartimento delle Produzioni Vegetali Sostenibili, Università Cattolica del Sacro Cuore, Piacenza*

(b) *Dipartimento di Scienze Animali, della Nutrizione e degli Alimenti, Università Cattolica del Sacro Cuore, Piacenza*

La copresenza di diverse micotossine nelle matrici vegetali, come pure la notevole variabilità delle contaminazioni tra gli anni, ha assunto importanza crescente. Questo è testimoniato dalla pubblicazione di lavori che riportano dati al riguardo, dall'interesse crescente per i metodi analitici multi-tossina, come anche da problematiche riscontrate nella gestione delle filiere produttive. Un ruolo importante in questa tendenza è certamente svolto dai cambiamenti climatici che hanno portato un incremento dell'incertezza, ovvero una grande variabilità delle condizioni meteorologiche tra gli anni, ma anche durante la stagione colturale.

In questo contesto, i diversi funghi che possono essere co-presenti in una coltura, con esigenze ecologiche differenti, trovano in momenti diversi una condizione ottimale per le loro attività; ad esempio, con temperature miti e piogge *Fusarium* sarà il fungo favorito, mentre in periodi caldi e siccitosi *Aspergillus* risulterà dominante. E questo avviene durante la stagione colturale, rendendo assai difficile prevedere le contaminazioni da micotossine.

È quindi fondamentale acquisire dati sull'interazione dei funghi micotossigeni in diverse condizioni meteorologiche.

Recenti studi, svolti *in vitro* e in pieno campo, hanno fornito un interessante contributo al riguardo. In particolare, sono stati considerati *Fusarium verticillioides*, *F. graminearum* e *Aspergillus flavus*, funghi che sono comunemente co-presenti in mais.

Dalle prove *in vitro* è emersa una chiara interazione tra i diversi funghi, con un impatto importante sulle micotossine prodotte. La copresenza di diversi funghi ha generalmente limitato la sintesi delle singole tossine, ma talvolta l'ha stimolata; ad esempio con alte temperature e co-presenza di *A. flavus* e *F. verticillioides* aumenta la produzione di aflatossine. Le prove di pieno campo hanno sostanzialmente confermato quanto osservato *in vitro*, sottolineando che, nonostante la co-presenza dei diversi funghi garantita dall'inoculo artificiale, il risultato in termini di contaminazione da micotossine è stato fortemente influenzato dall'annata agraria.

Questi dati sono stati utilizzati per aggiornare i modelli previsionali, che in precedenza lavoravano senza considerare le interazioni tra i diversi funghi, ottenendo un miglioramento delle capacità predittive.

Lavoro svolto nell'ambito del progetto MycoKey, "Integrated and innovative key actions for mycotoxin management in the food and feed chain – MycoKey", GA n.678781.

AN OVERVIEW ON THE UPDATED EU LEGISLATION ON MYCOTOXINS AND PLANT TOXINS

Verstraete F.
Commissione Europea, Bruxelles, Belgio

The EU legislation on contaminants Council Regulation (EEC) No 315/93 of 8 February 1993 provides that food containing a contaminant in an amount which is unacceptable from the public health viewpoint shall not be placed on the market (food can only be placed on the market when it is safe). Furthermore, it is foreseen that contaminant levels shall be kept as low as can reasonably be achieved by following good practices at all stages of the production chain and in order to protect public health, maximum levels for specific contaminants shall be established where necessary. Also, the consultation of EFSA for all provisions which may have an effect upon public health is mandatory.

Following requests of the European Commission, the Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM) from the European Food Safety Authority (EFSA) has completed in recent years several scientific opinions on contaminants, including on mycotoxins and plant toxins, reviewing the possible risks for human health due to the presence of these substances in food.

In recent years, an increased prevalence and a significant year-to-year variation of the presence of mycotoxins in food in the European region can be observed. Climate change and extreme weather conditions are considered to be the main cause. This situation entails specific challenges for farmers, feed and food manufacturers, traders and regulators to ensure the safety for human health of food while ensuring the supply of major staple food such as cereals.

In the presentation, up to date information shall be provided on the recent and ongoing discussions on citrinin, ergot alkaloids, alternaria toxins, ochratoxin AZ, deoxynivalenol and modified forms, T-2 and HT-2 toxin, aflatoxins, ...

A lot of attention has been paid recently from an EU regulatory point of view to the presence of plant toxins in food and this is likely to increase in the future: erucic acid, pyrrolizidine alkaloids, tropane alkaloids, opium alkaloids, cyanogenic glycosides, tetrahydrocannabinol, hydrocyanic acid ...!

The presentation will bring you fully up to date on what is ongoing and what can be expected in the near future as regards EU policy on mycotoxins and plant toxins food!

STRATEGIE OPERATIVE PER LA MITIGAZIONE DEL RISCHIO DA MICOTOSSINE: PROGRESSI E CRITICITÀ

Reyneri A., Blandino M., Scarpino V.

Dipartimento di Scienze Agrarie, Forestali e Alimentari, Università degli Studi, Grugliasco, Torino

La problematica della contaminazione da micotossine nelle filiere agro-alimentari italiane e più in generale dell'Unione Europea (UE) è rimasta "sottotraccia" e relegata a un contesto tecnico ristretto fino ad emergere in modo prepotente nel 2003. Seppure la normativa sulle Aflatossine sia entrata in vigore già nel 2001 (Reg. 466), i casi critici erano quasi esclusivamente riferibili a lotti di frutta secca importati da Paesi extra-europei.

L'andamento meteorologico estremamente caldo e asciutto del 2003 ha determinato uno stress idrico importante in tutti gli areali cerealicoli del Sud Europa determinando una diffusa contaminazione da Aflatossine nella granella di mais, in particolare negli areali italiani. Il sistema di raccolta e stoccaggio fu colto gravemente impreparato, mancando una rete capillare di analisi alla ricezione, di capacità di efficaci interventi di decontaminazione, di segregazione delle partite più contaminate e, infine, di controllo della granella in fase di stoccaggio finale. Successivamente con l'entrata in vigore del Reg. UE 1881 del 2006 vennero inseriti tra i contaminanti normati, tra gli altri, anche le fusarium-tossine.

Da quell'anno le filiere cerealicole si trovarono nelle condizioni di approntare con urgenza strategie operative per la mitigazione delle contaminazioni da micotossine, sia per i cereali vernini, con l'obiettivo di controllare il Deossinivalenolo (DON), sia per il mais con obiettivo le Aflatossine (AFB₁) e le Fusarium-tossine (FUM B₁ + B₂; DON, ZEA). Gli elementi guida delle strategie hanno da subito interessato sia la fase di campo sia quella di post-raccolta. Per la struttura delle filiere cerealicole nazionali gli interventi di post raccolta, condotti da operatori altamente professionali, hanno incontrato una rapida diffusione e una progressiva applicazione attraverso il controllo di tutte la partite dall'accettazione, all'introduzioni di sistemi di pulitura più attenti, sino all'impiego delle selezionatrici ottiche nelle condizioni di rischio. Sistemi di allerta basati su modelli previsionali e/o osservazioni di campo hanno permesso di allertare le filiere e di consentire l'adozione di programmi di controllo avanzato estesi su gran parte dell'areale cerealicolo più soggetto a contaminazioni critiche. Diverso è il caso delle strategie operative di campo: queste infatti debbono essere estese ad un numero di soggetti molto ampio e disomogeneo. L'adozione di Linee Guida a livello regionale e nazionale è stata recepita con maggiori difficoltà anche perché molti degli interventi agrotecnici indicati presentano un sicuro impatto organizzativo ed economico e ciò in contesto di bassa redditività. Nel complesso pur nella grande eterogeneità dei casi, le strategie attuali di mitigazione si sono dimostrate efficaci. Ne è riprova la capacità dimostrata dalle filiere di gestire situazioni critiche quali quelle incontrate nel 2014 e 2015 per il mais e nel 2018 per i cereali vernini.

MICOTOSSINE: ASPETTI MERCANTILI E COSTI DELL'AUTOCONTROLLO NEI CENTRI DI STOCCAGGIO CEREALI DELL'EMILIA-ROMAGNA

Villani A. (a), Baccharini G. (b)
(a) *A.G.E.R., Borsa Merci, Bologna*
(b) *Consorzio Quadra, Bologna*

La gestione del pericolo di contaminazione da micotossine delle materie prime cerealicole, ha comportato una diversa e più puntuale applicazione dei sistemi di autocontrollo da parte degli stoccatrici di cereali.

L'intensificazione dei controlli sul prodotto in ingresso - con l'adozione sistematica di sistemi rapidi di screening analitico - ha avuto come conseguenza un aumento dei costi di accettazione non sempre valorizzabili.

La maggiore sensibilità verso le tematiche igieniche ha portato anche ad una evoluzione degli strumenti contrattuali che regolano gli scambi, delle relative pattuizioni e delle voci di rilevazione dei listini delle Borse Merci.

L'impegno delle aziende di stoccaggio si concentra soprattutto nella determinazione del tenore di Aflatossine nel granturco di quello del Deossinivalenolo nei frumenti duri e teneri.

Nell'ambito della Regione Emilia-Romagna - che rappresenta un territorio di primaria importanza per le produzioni cerealicole nazionali - è da anni in vigore un "Protocollo di intesa" che prevede per i firmatari l'adozione di Linee guida per un piano di autocontrollo aziendale dalla fase di raccolta alla vendita post- stoccaggio del granturco ad uso alimentare (*feed e food*) finalizzato alla gestione del rischio contaminazione da Aflatossine ed alla corretta gestione del prodotto non conforme.

Le ricorrenti problematiche qualitative del granturco - e le conseguenze sui prezzi di mercato - hanno avuto progressivi effetti strutturali sulla produzione nazionale di granturco che oggi vede il ricorso ad elevati ed inediti livelli di importazione da paesi terzi.

Il controllo del tenore di Deossinivalenolo nei frumenti - in particolare per il frumento duro (sia per la sua destinazione d'uso che per la sensibilità specifica) oltre che per il frumento tenero - non è certamente di minor importanza per lo stoccatore di quello dell'Aflatossina nel granturco.

La rilevanza economica e mercantile delle contaminazioni da micotossine sulla valorizzazione dei prodotti, le specifiche pattuizioni contrattuali e l'incidenza dei costi relativi all'implementazione degli autocontrolli aziendali è la componente principale di questo lavoro unitamente alla gestione della successiva fase di conservazione.

MONITORAGGIO DI ALCALOIDI PIRROLIZIDINICI IN MIELI DI ORIGINE NAZIONALE ED ESTERA

Caprai E. (a), Quaglia G. (b), Polonini G. (a), Minkoumba Sonfack G. (a), Fedrizzi G. (a)
(a) *Reparto Chimico degli Alimenti, Istituto Zooprofilattico Sperimentale Lombardia ed
Emilia-Romagna, Bologna*
(b) *Floramo Corporation srl, Cuneo*

Gli alcaloidi pirrolizidinici (PAs) sono metaboliti secondari prodotti da più di 6000 specie botaniche, appartenenti alle famiglie delle *Boraginaceae*, *Fabaceae* e *Asteraceae*.

Dal punto di vista strutturale i PAs sono costituiti da uno scheletro biciclico (necina), esterificato con uno o due acidi carbossilici (acidi necici). La presenza di un doppio legame in posizione 1,2 è essenziale per l'attività epatotossica, genotossica e cancerogena. Tali alcaloidi svolgono un ruolo importante nei meccanismi di difesa delle piante e si possono ritrovare come sostanze indesiderabili in alimenti e mangimi e in particolare nel miele se le api bottinano polline o nettare di specie vegetali che li contengono. Attualmente, a livello comunitario, non sono stati definiti limiti massimi di legge per queste sostanze; in Italia, dal 2017, il Ministero della Salute ha inserito la ricerca degli alcaloidi pirrolizidinici nel piano di monitoraggio delle tossine vegetali negli alimenti.

In questo studio sono stati analizzati 130 mieli di diversa provenienza (95 nazionali e 35 esteri) e di diversa origine floreale, al fine di valutare la presenza di 28 PAs: Echimidina, Erucifolina, Europina, Heliotrina, Intermedina, Jacobina, Lasiocarpina, Lycopsamina, Monocrotalina, Retrorsina, Senecifillina, Senecionina, Senecivernina, Senkirikina, Tricodesmina e 13 relativi N-ossidi. La metodica analitica utilizzata consisteva in un una fase di purificazione tramite QuEChERS seguita da un'analisi in LC-MS/MS. Il LOQ del metodo era pari a 0,2 µg/kg per ciascun alcaloide. Dei 35 mieli esteri, in prevalenza costituiti da mieli multifloreali, il 91% ha mostrato la presenza di PAs in concentrazioni variabili tra 1,1 e 121,1 µg/kg (somma PAs); tutti i mieli provenienti da Spagna, Argentina, Messico e Vietnam sono risultati contaminati. Echimidina e Lycopsamina sono risultati gli alcaloidi presenti in concentrazioni più elevate e maggiormente frequenti nei mieli contaminati (78%). Per quanto riguarda i mieli italiani, la provenienza era distribuita su tutto il territorio nazionale. Sono stati analizzati 19 mieli multifloreali e 76 mieli unifloreali tra le seguenti tipologie: rododendro, cardo, acacia, castagno, agrumi, tiglio, ciliegio, girasole, colza, sulla, eucalipto, timo, tarassaco e melata. Nonostante la diversa provenienza geografica, tutti i campioni di melata hanno mostrato la presenza di PAs in concentrazioni comprese tra il LOQ e 22 µg/kg. La maggiore concentrazione di PAs è stata riscontrata in un campione di miele di timo della provincia di Siracusa (79,1 µg/kg); concentrazioni elevate di PAs sono state riscontrate anche nei mieli di cardo ed eucalipto provenienti dalla Sardegna. Nei mieli contaminati, Lycopsamina era l'alcaloide presente in concentrazione più elevata, mentre Echimidina quello più frequente (61%).

IL RISCHIO MICOTOSSINE: UNA POSSIBILE SOLUZIONE PER IL MAIS

Manfredini R.

Area Sicurezza Alimentare e Produttiva, Coldiretti, Roma

Secondo i dati del sistema di allerta rapido europeo (RASFF), che rileva se gli alimenti contengono sostanze vietate o quantità eccessive di sostanze ad alto rischio per cui l'allarme è diffuso in tutta l'UE, il rischio di contaminazione di micotossine sui prodotti alimentari è tra quelli più presenti negli ultimi anni (quasi sempre al terzo posto). Anche l'Italia, che è tra i Paesi europei che effettua il maggior numero di notifiche nella rete RASFF, continua a segnalare la contaminazione da micotossine su una serie di prodotti, in particolare di Aflatossine su nocciole e fichi secchi dalla Turchia. Considerato che la Turchia è il principale esportatore di nocciole in Italia, è evidente la minaccia alla sicurezza alimentare (*food safety*) per importazioni da Paesi che non hanno gli stessi standard produttivi e sanitari, come quelli europei/italiani. Le muffe produttrici di micotossine possono essere rinvenute su quasi tutte le colture d'interesse agrario ed in ogni punto della catena alimentare. Il rischio della contaminazione è presente anche in Italia e affligge in particolare i produttori di cereali, soprattutto di mais, che subiscono il deprezzamento del prodotto a causa di condizioni sanitarie non adeguate delle cariossidi, con ricadute negative anche in termini di investimenti. Il settore primario è il punto iniziale della prevenzione della contaminazione da micotossine e gli agricoltori sono impegnati nell'applicazione delle buone pratiche per il controllo in ogni fase del processo, a partire dalla scelta dell'ibrido fino ad arrivare al raccolto e alle fasi post-raccolto, in linea con le linee guida del Mipaaf del 2016. Per prevenire efficacemente il problema delle micotossine nel mais, oltre alle necessarie buone pratiche agricole, c'è un ulteriore strumento, un prodotto innovativo e totalmente naturale, l'AF-X1, una miscela di funghi autotctoni non tossigeni del ceppo *Aspergillus flavus* appartenenti allo stesso genere dei funghi patogeni, messo a punto dall'Università Cattolica del Sacro Cuore di Piacenza, in collaborazione con Pioneer, Coldiretti e Consorzi Agrari d'Italia. Il ceppo, selezionato tra i 138 *Aspergillus* presenti in Italia, distribuito sulle coltivazioni in modo da inoculare le piante ospiti e occupare la nicchia ecologica prediletta dai funghi patogeni, ha l'obiettivo di impedirne lo sviluppo. I primi risultati fanno ben sperare: nelle prove eseguite sul mais il livello di Aflatossine delle coltivazioni trattate con AF-X1 è stato <20 ppb (limite attualmente in vigore per le materie prime destinate a mangimi) nel 99,8% e <3 ppb nel 96,2% dei casi, consentendo a queste produzioni l'accesso alle filiere di qualità.

In conclusione, produrre alimenti sicuri e di qualità costa e il mercato dovrebbe riconoscere un giusto prezzo agli sforzi dei produttori. Il settore primario è il punto iniziale, ma le misure di prevenzione della contaminazione da micotossine devono essere adottate da tutti i soggetti della filiera ed è quindi indispensabile il loro coinvolgimento nell'individuazione delle misure da adottare e nell'applicazione delle stesse.

MICOTOSSINE E GARANZIA DELLA SICUREZZA ALIMENTARE LUNGO TUTTA LA FILIERA: DAL CAMPO AL CONSUMO FINALE

Fontana M.

Soremartec Italia, Gruppo Ferrero, Alba, Cuneo

La contaminazione da Micotossine negli alimenti è uno dei problemi che impattano pesantemente sulla Food Security e sulla Food Safety a livello mondiale:

- 4,5 miliardi di persone sono esposte annualmente alle Micotossine;
- circa il 25% delle derrate alimentari mondiali sono contaminate da Micotossine.

La contaminazione di gran parte degli alimenti di origine vegetale può avvenire lungo tutta la catena di produzione, dalla coltivazione in campo al trasporto, dallo stoccaggio alle diverse fasi di lavorazione/trasformazione, a seguito dello sviluppo di muffe e della successiva produzione di micotossine, che rappresentano i loro metaboliti prodotti in particolari condizioni di microclima e di stress. Per questo la strategia di prevenzione della presenza di Micotossine negli alimenti è basata su azioni e controlli lungo tutta la filiera, impostate e gestite in modo strutturato. L'aspetto più importante per garantire una efficace sistema di prevenzione è la rappresentatività del campionamento e dell'analisi. Infatti dovendo garantire un livello di contaminazione inferiore a qualche microgrammo/kg (ppb) e di tipologia assolutamente puntuale, il tipo di campionamento e il metodo analitico utilizzati devono essere valutati con estrema attenzione e le analisi svolte in modo molto accurato. Anche le fasi di trasporto, stoccaggio e lavorazione/trasformazione hanno una significativa incidenza sulla possibilità o meno dello sviluppo di muffe/Aflatossine, quindi devono essere progettate e gestite in modo da evitare le condizioni che agevolano il loro sviluppo. Per una gestione accurata che garantisca il presidio di tutta la filiera è utile lo sviluppo completa di un sistema integrato che includa:

- la prevenzione della formazione in campo, con l'utilizzo di idonee pratiche agricole;
- la ricerca di cultivar resistenti all'attacco di funghi micotossigeni;
- tecniche di post-raccolta in grado di prevenire la contaminazione;
- misure di controllo nelle diverse fasi per bloccare in tempo reale i lotti contaminati e per raccogliere anche i segnali deboli, utili a intervenire in modo preventivo su eventuali criticità emergenti. Inoltre le analisi delle diverse fasi, in successione, sono utili a verificare la congruità dei risultati e quindi a confermare la validità di quanto messo in essere per garantire il rispetto dei limiti definiti a garanzia della Sicurezza alimentare dei prodotti finiti proposti al consumatore.

Il tutto con una progettazione che identifichi i punti critici e la loro gestione con un approccio HACCP. Viene qui presentata l'esemplificazione di questo approccio integrato applicato alla filiera della nocciola, che, sviluppato e ottimizzato negli anni, ha ormai raggiunto risultati positivi e consolidati di garanzia del presidio della filiera.

AZIONI INTEGRATE ED INNOVATIVE PER LA GESTIONE DELLE MICOTOSSINE: IL PROGETTO MYCOKEY, UN ESEMPIO EFFICACE DI DIALOGO UE-CINA

Logrieco A.F.

Istituto di Scienze delle Produzioni Alimentari, Consiglio Nazionale delle Ricerche, Bari

La gestione e l'uso delle buone pratiche agricole nel pre-raccolto è un aspetto chiave per ridurre al minimo il rischio di accumulo di micotossine nelle colture prima del raccolto. Tali pratiche possono comportare la rotazione delle colture, la lavorazione del terreno, un'adeguata fertilizzazione, l'uso di fungicidi, il controllo biologico, la selezione di varietà resistenti, una tempestiva messa a dimora del raccolto. D'altro canto, la riduzione delle micotossine lungo le catene agro-alimentari dipende anche da una corretta gestione post-raccolta che deve mirare innanzitutto alla separazione dei prodotti vegetali infetti dal materiale sano. Lo sviluppo di procedure pratiche ed efficaci post-raccolta e la fornitura di opzioni alternative e sicure di utilizzo per i lotti contaminati sono punti cruciali per la riduzione delle micotossine nelle catene di approvvigionamento di alimenti e mangimi.

Un aggiornamento di una gestione integrata delle pratiche pre- e post-raccolta finalizzata a ridurre al minimo il rischio di contaminazione da micotossine delle principali colture di importanza agro-alimentare e le principali soluzioni efficaci proposte dal progetto europeo MycoKey (<http://www.mycokey.eu/>) sarà fornito nella presentazione. Il progetto sta contribuendo a ridurre la contaminazione da micotossine a livello globale con particolare attenzione in Europa e Cina, dove si verificano frequenti e gravi contaminazioni da micotossine nelle colture e dove il commercio internazionale di merci e lotti contaminati sta aumentando. Il progetto sta contribuendo in modo significativo a rafforzare la cooperazione tra UE-Cina in questo settore strategico attraverso lo scambio di conoscenze e materiale genetico, la condivisione e l'ottimizzazione di protocolli standard e strategie comuni per la prevenzione, l'intervento e il risanamento. Questa cooperazione UE-Cina è inoltre rafforzata da una stretta collaborazione tra MycoKey e MyToolBox (www.mytoolbox.eu). Il progetto sta inoltre integrando le informazioni chiave e le soluzioni pratiche per la gestione delle micotossine in uno strumento ICT intelligente (MycoKey App). Gli strumenti e le metodologie che si sviluppano in MycoKey sono strategicamente mirati per un'applicazione economicamente efficace sul campo e durante lo stoccaggio, l'elaborazione e il trasporto al fine di aumentare la sicurezza alimentare lungo le catene alimentari nell'UE e in Cina.

Questo lavoro è stato supportato dal progetto MYCOKEY (H2020 - Grant Agreement No 678781)

RACCOLTA E GESTIONE DATI SULLE MICOTOSSINE IN EFSA E MIGLIORAMENTO DELLA QUALITÀ DEL DATO PER L'ESPOSIZIONE

Cappè S.

Team Data Management and Analysis, Evident Management Unit, Parma

Negli articoli 32 e 33 del Regolamento (CE) 178/2002, EFSA ha ricevuto dalla commissione europea il mandato di raccogliere dati per supportare le attività di valutazione del rischio alimentare, inclusi i dati sull'occorrenza di contaminanti chimici negli alimenti e nei mangimi. Di quest'ambito fanno parte anche le micotossine. Il sistema di raccolta dati europeo si basa sulla trasmissione armonizzata dei dati utilizzando un modello standard. Le trasmissioni vengono in genere effettuate dalle autorità competenti degli Stati Membri che si occupano di centralizzare la raccolta dati nazionale. Il processo di raccolta prevede una trasmissione annuale, effettuata entro il 1 ottobre di ogni anno. Fino al 2018, il modello di raccolta dati era la *Standard Sample Description on Food and Feed* e veniva predisposto un flusso specifico per ogni area (contaminanti chimici, occorrenza di additivi, residui di prodotti veterinari, residui di pesticidi). Nel 2019, per la prima volta, la raccolta dati avverrà esclusivamente nel formato *Standard Sample Description ver. 2*. Il nuovo formato, evoluzione del precedente, permette di raccogliere in un unico flusso dati molto eterogenei: contaminanti chimici, occorrenza di additivi e residui veterinari. L'approccio al sistema di raccolta dati integrato verrà esteso nel 2020 anche ai residui dei pesticidi. La presentazione affronterà i requisiti specifici per le micotossine nel contesto della raccolta dati integrata e le relative problematiche.

Infine verranno presentati problemi specifici di qualità del dato, riscontrati durante l'analisi nel 2018, come la rilevazione dei duplicati, degli *outliers* e dei risultati non plausibili e la loro relativa gestione.

FATTORE DI CONCENTRAZIONE DELL'AFLATOSSINA M₁ NELLA CACIOTTA BOVINA DA LATTE NATURALMENTE CONTAMINATO

Pecorelli I. (a), Branciaro R. (b), Roila R. (b), Bibi R. (a), Ranucci D. (b), Onofri A. (c), Valiani A. (a)

(a) *Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche, Perugia*

(b) *Dipartimento di Medicina Veterinaria, Università degli Studi, Perugia*

(c) *Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari ed Ambientali, Università degli Studi, Perugia*

In questo studio sperimentale è stato determinato il Fattore di Concentrazione (FC) dell'Aflatossina M₁ (AFM₁) nella caciotta bovina prodotta con latte naturalmente contaminato. Il FC viene determinato per stabilire il "tenore massimo" di AFM₁, nel prodotto lattiero caseario, in accordo con l'articolo 2 del Regolamento (CE) n. 1881/2006 della Commissione. Nello studio 8 partite di latte, contenenti AFM₁ in concentrazioni comprese tra 0,020 e 0,148 µg/kg, sono state utilizzate per produrre altrettanti lotti di formaggio semi duro. È stata determinata la concentrazione di AFM₁ nel latte, nel siero e nel formaggio per valutare il bilancio di massa dell'AFM₁ dell'intero processo produttivo. Ciascun lotto di formaggio è stato stagionato per 45 giorni durante i quali non si sono verificate significative variazioni del livello di concentrazione di AFM₁ e del corrispondente FC. Dopo 45 giorni di stagionatura il FC, determinato nei diversi lotti di formaggio, era compreso tra 4,68 e 5,78 con una media di 5,16±0,37 (SD). I dati sperimentali dimostrano, inoltre, l'indipendenza del FC dalla concentrazione della micotossina nella materia prima. L'analisi secondo Pearson mostra una significativa correlazione negativa tra FC e resa del formaggio ($r = -0,811$). L'analisi di regressione conferma che la resa del formaggio e quindi la composizione del latte (variabile da specie a specie) hanno un marcato effetto sul FC ($p < 0,0003$). La resa casearia è stata pertanto identificata come un fattore fondamentale che influenza la presenza e la concentrazione della micotossina nel formaggio stesso. Tale aspetto, associato con la categoria di durezza definita in relazione al MFFB (*Moisture Fat-Free Basis*), calcolato ai sensi della Decisione della Commissione 18 dicembre 1996 (97/80/CE), contribuisce significativamente alla definizione del fattore di concentrazione.

MICOTOSSINE E TOSSINE VEGETALI: CRITICITÀ NEL SETTORE MOLITORIO

Cavalli L.

Associazione Nazionale Tecnici Industria Molitoria, Asti

Nel settore Molitorio il problema delle Micotossine soprattutto del DON è molto sentito. Le condizioni metereologiche durante la fioritura del grano incidono molto sulla presenza o meno di *fusarium*, questo fa sì che in alcuni areali di approvvigionamento il grano sia affetto da DON.

Essendo la farina o la semola il principale componente di Pane, pasta, pizza e molti altri prodotti da forno è evidente l'importanza dei controlli che le industrie molitorie devono effettuare costantemente sulla materia prima "GRANO".

Il Molino è il primo e l'ultimo scoglio per impedire di immettere sul mercato prodotti NON SANI sia dal punto di vista Igienico che Sanitario, basta pensare che il grano viene fornito oltre che da grandi Cooperative anche da singoli agricoltori che non effettuano analisi sul grano ed il molino, a sua volta, dopo aver trasformato il grano in farina o semola, rifornisce forni e pizzerie che non effettuano analisi né sulle materie prime, né sul prodotto finito.

La fase di accettazione del grano nei molini è quindi la più importante di tutto il processo di trasformazione.

Valutazione dei fornitori, campionamento di tutti gli arrivi di grano, corretta metodologia di campionamento, analisi del DON su tutti gli arrivi con metodi rapidi sono diventati la normalità per il molino industriale di oggi.

Purtroppo però le difficoltà dei molini non sono finite, le tendenze alimentari portano ad un aumento notevole di consumo di prodotti integrali, e come ben sapete i limiti di legge del DON sul grano sono ben superiori dai limiti di legge dello stesso sulla farina, questo implica che fino a quando si mangiava in gran parte prodotti ottenuti con farina bianca il problema non si poneva in quanto il DON del grano si concentra maggiormente sulla parte corticale del chicco, ma da quando la parte corticale fa parte del prodotto finito ecco che le problematiche si accentuano. Diventa quindi fondamentale nei molini industriali effettuare processi di pulitura e una perfetta selezione dei chicchi riducendo notevolmente i livelli di DON e la presenza di micotossine vegetali per poter ottenere prodotti integrali perfetti dal punto di vista igienico sanitario.

RETE QUALITÀ MAIS

Locatelli S., Mascheroni S., Lanzanova C., Pecchioni N.

Consiglio per la Ricerca in Agricoltura e l'Analisi dell'Economia Agraria, Bergamo

Il mais è una coltura chiave per il sistema agroalimentare italiano; è elemento portante per l'alimentazione del patrimonio zootecnico, essenziale per quasi tutte le produzioni DOP, simboli del Made in Italy alimentare nel mondo. Nonostante ciò, si sta assistendo da una decina di anni, ad un forte calo produttivo, sia in termini di rese che di superfici coltivate. Tra le cause che hanno provocato questa contrattura, oltre alle quotazioni poco remunerative, ha giocato un ruolo determinante la contaminazione da micotossine.

La granella di mais è soggetta ad infezione da parte di diverse specie fungine che provocano un accumulo di micotossine, prodotti del loro metabolismo secondario. Le micotossine che si riscontrano con maggiore frequenza nella granella di mais sono: Aflatossine, prodotte da *Aspergillus flavus*, e Fumonisine, prodotte da *Fusarium verticillioides*. Le micotossine sono tossiche per gli animali e per l'uomo; in particolare le Aflatossine, la cui assunzione può avvenire tramite vegetali contaminati e alimenti di origine zootecnica. I rischi potenziali per la salute umana derivati dal consumo di alimenti contaminati dalla presenza di micotossine, hanno indotto le istituzioni nazionali ed internazionali a stabilire i valori limite del loro contenuto in granella di mais e prodotti da essa derivati (Regolamento (UE) n. 1126-2007, Regolamento (UE) n. 0574-2011).

Dal 1999, il CREA Centro di ricerca Cerealicoltura e Colture Industriali, sede di Bergamo, coordina la rete qualità mais: da circa 40 impianti di essiccazione-stoccaggio, collocati entro gli areali di produzione di Piemonte, Lombardia, Veneto, Friuli-Venezia Giulia, Emilia-Romagna, ogni anno vengono raccolti campioni di granella sui quali viene effettuata l'analisi del contenuto delle principali micotossine: Aflatossina B₁, Fumonisine, Deossinivalenolo E Zearalenone. L'obiettivo è di acquisire informazioni capillari e omogenee circa la presenza delle micotossine nella produzione maidicola nazionale, attraverso un diffuso monitoraggio territoriale presso le aziende, i centri di stoccaggio e di trasformazione del prodotto.

Le indagini condotte nel corso delle campagne maidicole, dal 2015 al 2018, confermano una frequente contaminazione da Fumonisine in quantità variabile a seconda dell'andamento climatico stagionale mentre in annate particolarmente calde e siccitose, come ad esempio il 2015, si aggiungono le Aflatossine. I risultati, allineati con i dati omogenei degli anni precedenti e correlati con l'andamento climatico, i bacini di raccolta e le aree di produzione, costituiscono elementi di un database utilizzabile per le attività di previsione-prevenzione e gestione del rischio micotossine. La disponibilità dei dati di monitoraggio riveste un ruolo di utilità immediata, in quanto fornisce agli operatori e ai trasformatori del settore maidicolo indicazioni utili per la programmazione e gestione degli approvvigionamenti.

La ricerca si è svolta nell'ambito del progetto di ricerca: RQC-MAIS (Rete Qualità Cereali - Mais, 2014-2018), finanziato da MiPAAFT (D.D.N. 88666 del 03/12/2014).

INNOVAZIONI PER IL CONTROLLO DELLE MICOTOSSINE NEI CEREALI VERNINI

Blandino M. (a), Scarpino V. (a), Sulyok M. (b), Vanara F. (a), Reyneri A. (a)
(a) *Dipartimento di Scienze Agrarie, Forestali e Alimentari, Università degli Studi, Grugliasco, Torino*
(b) *Center for Analytical Chemistry, Department of Agrobiotechnology, Tulln, Austria*

Al fine di minimizzare i rischi sanitari, i sistemi colturali del frumento sono disegnati per controllare principalmente la contaminazione della micotossina normata più frequentemente ritrovata, il Deossinivalenolo (DON). La combinazione tra i fattori agronomici, quali la rotazione colturale, la gestione dei residui colturali, la suscettibilità varietale e l'applicazione di fungicidi in fioritura per il controllo della fusariosi della spiga, in percorsi agronomici integrati e la loro interazione con l'andamento meteorologico impatta fortemente sulla contaminazione da DON. Lo scenario agronomico più favorevole nel ridurre il rischio di contaminazione (aratura, varietà mediamente tollerante, trattamento fungicida) riduce fino al 97% il contenuto in DON rispetto a quello più rischioso (minima lavorazione, varietà suscettibile, nessun trattamento di difesa della spiga). Tuttavia, molte altre micotossine e metaboliti secondari prodotti da *Fusarium* e altre specie sono ritrovati nei cereali vernini. L'obiettivo di questo contributo è quello di verificare se l'applicazione dei programmi agronomici per controllare il DON possa minimizzare il rischio anche delle micotossine emergenti. Nell'ambito di diverse sperimentazioni in campo (2010-2018) condotte in Nord Italia in condizioni di inoculo naturale sono stati confrontati percorsi agronomici con differente suscettibilità al DON. I campioni di granella sono stati analizzati con un metodo multitossina LC-MS/MS e 43 metaboliti fungini sono stati quantificati. Oltre al DON, i composti più abbondanti sono stati aurofusarina, culmorina, Deossinivalenolo-3-glucoside, moniliformina ed enniatine. Altri tricoteceni, forme derivate dello zerealenone, tossine da *Alternaria* e alcaloidi dell'ergot sono stati ritrovati a minori concentrazioni e in specifiche condizioni meteorologiche e agronomiche. L'applicazione dei percorsi agronomici per minimizzare il rischio di contaminazione da DON riduce significativamente (>84%) la contaminazione di altri metaboliti prodotti dalle specie fungine produttrici del DON, mentre riducono, in misura minore, i metaboliti prodotti da altre specie fungine. L'impatto di innovative strategie di controllo della fusariosi della spiga, quali la selezione di nuove varietà più tolleranti, l'utilizzo di composti naturali ad azione fungicida (estratti algali ad alto potere antiossidante), la distribuzione di biocompetitori al suolo per ostacolare la formazione dell'inoculo, è stato verificato sul contenuto di micotossine normate ed emergenti. Le nuove soluzioni testate possono contribuire a ridurre ulteriormente il rischio sanitario nei cereali vernini, ma per consentirne un futuro impiego debbono essere considerate con attenzione, in particolare per le applicazioni di biocompetitori, le interazioni con il sistema colturale e l'andamento meteorologico, nonché l'impatto su altre patologie e il ritorno economico dell'investimento.

PLANT TOXINS: IS THERE A CONCERN FOR HUMAN HEALTH DUE TO THE PRESENCE OF ALKALOIDS IN FOOD?

Baert K., Binaglia M.

European Food Safety Authority, Parma, Italia

Foods may contain different types of alkaloids due to contamination or natural presence. EFSA assessed the risk for human and/or animal health related to the presence of opium alkaloids, Tropane Alkaloids (TAs) and Pyrrolizidine Alkaloids (PAs) in food and/or feed and assessments are currently on-going for quinolizidine- and glycoalkaloids. Opium alkaloids, such as morphine, codeine and thebaine, can be present in poppy seeds as a result of pest damage and during harvesting. The CONTAM Panel established an Acute Reference Dose (ARfD) of 10 µg morphine/kg body weight (bw) and concluded that the concentration of codeine in the poppy seed samples should be taken into account by converting codeine to morphine equivalents, using a factor of 0.2. Dietary exposure to morphine equivalents from poppy seeds considered to have high levels of opium alkaloids (i.e. poppy seeds from varieties primarily grown for pharmaceutical use) exceed the ARfD in most age groups. For thebaine, limited evidence indicates a higher acute lethality than for morphine and the estimated exposure could present a health risk. Tropane Alkaloids (TAs) are secondary metabolites which naturally occur in plants of several families including Brassicaceae, Solanaceae (e.g. mandrake, henbane, deadly nightshade, Jimson weed) and Erythroxylaceae (including coca). The risk assessment was restricted to (-)-hyoscyamine and (-)-scopolamine, due to lack of data on other TAs. Based on the results for decreased heart rate in a human volunteer study, the CONTAM Panel established a group ARfD of 0.016 µg/kg body weight (b.w.) expressed as the sum of (-)-hyoscyamine and (-)-scopolamine, assuming equivalent potency. Dietary exposure of toddlers could be up to seven times the group ARfD. PAs are plant secondary metabolites that are mainly found in the distantly related angiosperm families of the Boraginaceae, Asteraceae and Fabaceae. In 2011, the CONTAM Panel assessed the risks related to the presence of PAs in food and feed. Based on occurrence data limited to honey, the CONTAM Panel concluded that there was a possible health concern for those toddlers and children who are high consumers of honey. In 2016, EFSA updated the exposure assessment and the CONTAM Panel established a new Reference Point of 237 µg/kg body weight per day in 2017 to assess the carcinogenic risks of PAs. It was concluded that there is a possible concern for human health related to the exposure to PAs, in particular for frequent and high consumers of tea and herbal infusions.

Acknowledgements - EFSA wishes to thank the members of the CONTAM Panel, the WG on alkaloids and the WG on opium alkaloids. EFSA would also like to thank all European Competent Authorities and other stakeholders that provided occurrence data in food and supported the consumption data collection for the Comprehensive European Food Consumption Database.

LA VALUTAZIONE DEL RISCHIO NEL SISTEMA NAZIONALE ITALIANO: ORGANIZZAZIONE E ATTIVITA'

Rodorigo D.

Direzione Generale degli Organi Collegiali per la Tutela della Salute, Ministero della Salute, Roma

La Direzione Generale degli Organi Collegiali per la Tutela della Salute (DGOCTS) rappresenta il centro di coordinamento dell'attività nazionale di valutazione del rischio, che viene svolta attraverso il Comitato nazionale per la sicurezza alimentare, dotato di una sezione che effettua valutazioni tecnico scientifiche relativamente ai rischi nella catena alimentare. La DGOCTS ha il ruolo di Autorità di riferimento per l'EFSA. In questa veste, con il contributo del Focal point nazionale, istituito presso la Direzione stessa, è il soggetto istituzionale che quotidianamente dialoga e scambia informazioni e comunicazioni con EFSA, avvalendosi anche della struttura ministeriale presente presso l'UVAC di Parma, come punto territoriale di contatto. La Direzione provvede a trasmettere le comunicazioni provenienti da EFSA a tutti gli organismi e gli esperti coinvolti nei network e alle strutture riconosciute come collaboratrici ai sensi dell'articolo 36 del Regolamento 178/2002, assicurando, anche attraverso il Portale ministeriale, la diffusione delle informazioni relative all'attività di EFSA. Nell'altra sezione dello stesso organismo, la Consulta delle associazioni, siedono i rappresentanti delle altre amministrazioni che hanno competenza in materia alimentare e delle associazioni dei produttori e dei consumatori operanti in questo settore. La Consulta rappresenta la sede deputata al confronto tra questi soggetti e le autorità operanti nel campo della sicurezza alimentare, e favorisce lo scambio di informazioni per facilitare un consumo consapevole e una dieta corretta da parte dei cittadini. La DGOCTS è la struttura responsabile di presentare alla sezione per la sicurezza alimentare del Comitato le richieste di valutazione che giungono dagli enti che si occupano di sicurezza alimentare e che chiedono indicazioni ai fini della gestione di loro competenza. La Direzione generale inoltre si occupa, insieme allo stesso Comitato nazionale, di predisporre una pianificazione annuale e pluriennale dei temi principali che l'organismo deve affrontare, siano essi emergenti o riemergenti, e sui quali si rende necessario compiere una valutazione dei rischi. Questa attività particolarmente qualificante, e che in qualche modo risente, rispecchia e si interfaccia con quella svolta da EFSA, anche attraverso la EU Risk assessment agenda, costituisce il fulcro dell'attività dell'Autorità pubblica italiana in materia di valutazione del rischio.

Ne discende la disponibilità di informazioni e documenti che vengono portati anche all'attenzione della sezione consultiva delle associazioni, che al tempo stesso diventa una cassa di risonanza dei principali provvedimenti adottati dalla sezione tecnico scientifica ma anche un'ulteriore sorgente di quesiti, richieste, stimoli per l'attività della Direzione generale e del Comitato.

VALUTAZIONE DELL'ESPOSIZIONE DEL CONSUMATORE ALLE MICOTOSSINE: ANALISI DEI DATI NSIS 2016-2017

Brera C., Debegnach F., Gregori E., Barea Toscan M.C., De Santis B.
*Dipartimento di Sicurezza Alimentare, Nutrizione e sanità pubblica Veterinaria, Istituto
Superiore di Sanità, Roma*

I dati del Nuovo Sistema Informativo Sanitario (NSIS) costituiscono una banca dati essenziale per poter disporre di una informazione armonizzata e sufficientemente rappresentativa anche se non esaustiva della qualità sanitaria dei prodotti alimentari.

In base ai criteri che disciplinano la raccolta dei dati di incidenza riportati nel Piano Nazionale Controllo delle Micotossine 2016-2018 e dal sistema *Standard Sample Description* (SSD) dell'EFSA, è stata valutata l'esposizione del consumatore italiano alle micotossine utilizzando i dati riportati nel database nazionale per gli anni 2016 e 2017.

L'approccio seguito è stato deterministico, utilizzando un approccio *lower bound* per i dati al di sotto del limite di quantificazione. Le conclusioni che sono state tratte hanno evidenziato nel 2016 una condizione di rischio tranquillizzante fatta eccezione per la categoria bambini di età compresa nell'intervallo 3-9,9 anni e, in parte, adolescenti, dove si sono registrati valori di esposizione superiori al 10% delle corrispondenti soglie tossicologiche di riferimento. La micotossina che presenta il contributo più significativo alla esposizione è il Deossinivalenolo nei prodotti a base di cereali con punte percentuali rispetto alla TDI pari al 72%.

Analogo andamento si è registrato nel 2017 seppur con un lieve miglioramento. La situazione generale presenta ancora alcune criticità relativamente alla esposizione alle Aflatossine ed al Deossinivalenolo in pressoché tutte le categorie alimentari e tutti i gruppi di consumatori considerati, con la condizione di rischio più significativa per la categoria bambini di età compresa nell'intervallo 3-9,9 anni e, in parte, adolescenti.

Al fine di poter valutare l'esposizione legata al consumo dei prodotti alimentari contaminati da micotossine, si suggerisce di orientare il campionamento sul territorio in modo più omogeneo assicurando una numerosità campionaria significativa ed un utilizzo di metodi di analisi con limiti di quantificazione possibilmente più confrontabili o quantomeno valutati di concerto con il Laboratorio Nazionale di Riferimento.

APPROCCIO PROBABILISTICO PER LA VALUTAZIONE DELL'ESPOSIZIONE AL DEOSSINIVALENOLO

De Santis B., Feraldi A., Debegnach F., Gregori E., Finocchietti M., Barea Toscan M.C., Brera C.

Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Sicurezza Alimentare, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Il Deossinivalenolo (DON) è una micotossina fonte di rischio a causa della sua presenza in una serie di cereali, come grano duro e tenero, orzo, avena e mais, largamente rappresentata nella dieta della popolazione italiana in quanto ingrediente principale di pasta, pane, pizza, polenta, torte e biscotti, ecc. La valutazione dell'esposizione alimentare viene effettuata più frequentemente seguendo l'approccio deterministico che utilizza valori singoli o stime puntuali quali input nell'equazione di esposizione. La valutazione probabilistica rappresenta un approccio più complesso giacché stima l'esposizione utilizzando le distribuzioni dei dati per le variabili di input. In base ai criteri che regolano l'approccio probabilistico, è stato effettuato uno studio finalizzato alla valutazione dell'esposizione del consumatore italiano al DON con la dieta. Per questa valutazione sono stati utilizzati i consumi alimentari di due set di dati: i dati ufficiali di consumo nazionali completi, ed un set di dati più ristretto derivato dallo studio di ricerca "DONEXPO". I valori di contaminazione del DON sono stati ricavati dai dati provenienti dal Piano Nazionale Ufficiale di Controllo delle Micotossine 2016-2018 che raccoglie i risultati dei piani di monitoraggio e sorveglianza dei contaminanti (compreso il DON) nei prodotti alimentari. I dati di consumo, essendo dati osservati completi, sono stati usati tal quali; i dati di contaminazione invece, essendo popolati sia da valori positivi (valori di contaminazione superiori ai limiti di quantificazione, LOQ), che da valori non rilevabili (valori inferiori al LOQ), sono stati elaborati con modelli statistici. Dopo aver sostituito i dati di contaminazione mancanti (inferiori al LOQ) delle distribuzioni censurate con valori plausibili (attraverso *Multiple Imputation* dei dati mancanti) e aver combinato i dati di contaminazione ottenuti con i dati di consumo normalizzati osservati (il rapporto tra il livello di consumo e il corrispondente peso corporeo del consumatore), è stata stimata l'esposizione probabilistica. Sui dati di esposizione sono stati calcolati la media, la varianza e l'intervallo di confidenza per ogni gruppo di consumatori (bambini, adolescenti, adulti, anziani) e per ogni categoria alimentare (pasta e sostituti, pane e panini, biscotti, cereali da colazione, torte e prodotti da forno e frumento, altri cereali e farine). Le stime di esposizione globale (somma delle stime di esposizione per ogni alimento) per adolescenti, adulti e anziani sono risultate inferiori alla soglia tossicologica di riferimento (dose giornaliera di tolleranza, TDI) di 1.000 ng/kg p.c.; per i bambini, invece, le stime sono risultate superiori alla TDI. Per quanto riguarda il contributo di ogni singola categoria alimentare all'esposizione media globale, i valori maggiori si sono avuti dalla pasta e dai sostituti della pasta e dal pane (dal 22 al 48% dell'esposizione media globale), mentre cereali da colazione, torte e prodotti da forno hanno prodotto un contributo all'esposizione media globale decisamente inferiore (dal 4 al 9%).

EFSA'S RECENT RISK ASSESSMENTS ON *FUSARIUM* TOXINS AND THEIR MODIFIED FORMS

Steinkellner H., Roldan R., Baert K., Binaglia M.
European Food Safety Authority, Parma

The European Commission (EC) asked EFSA to evaluate, if modified forms of Zearalenone (ZEN), T2- and HT-2 toxin (T2 and HT2), Nivalenol (NIV) and Fumonisin (FBs) can be included in group Health Based Guidance Values (HBGVs) together with their parent compounds and furthermore requested to assess the risks for animal health from ZEN and FBs. In a first step, the EFSA CONTAM Panel has re-evaluated the existing HBGVs in the light of new data for these mycotoxins and updated these existing values when appropriate. In the absence of robust toxicological information for any of the modified forms of these mycotoxins, mechanistic data and structural similarities have been used to derive relative potency factors for these modified forms. This facilitated inclusion of ZEN, T2 and HT2 and NIV metabolites in group HBGVs, while a group HBGV including modified FBs could not be established because of inconclusive data. Risks to animal health to ZEN and its modified forms was assessed using toxicological reference values established for ZEN for the different species and applying the relative potency factors for the different modified forms occurring in feed. The risks from ZEN and its modified forms (α -ZAL + β -ZAL + ZAN + α -ZEL + β -ZEL) was considered extremely low for poultry and low for sheep, dog, pig and fish. For cattle, ducks, goats, horses, rabbits, mink and cats, health risks from the exposure to ZEN and modified forms could not be assessed because of a lack of toxicological data. Modified forms of FBs could not be considered for assessing animal health risks. On the other hand, the inclusion of hidden, non-covalently matrix bound FB1-3, which is usually not measured in routine analyses, contributed for an additional 60% to FB concentrations in feed. Based on mean exposure estimates, the risks of adverse health effects of feeds containing FB1-3 and their hidden forms was considered of low concern for ruminants, poultry, horses, rabbits, fish but of concern for pigs. For cats, dogs and mink risks could not be characterised because of a lack of toxicological data.

Acknowledgements - EFSA wishes to thank the members of the CONTAM Panel and the members of the WG on Health Based Guidance Value (HBGV) for mycotoxins, the WG Fumonisin in feed and the WG on Zearalenone in feed. EFSA would also like to thank all European Competent Authorities and other stakeholders that provided feed consumption data and occurrence data on mycotoxins and their modified forms.

IL DATO DI CONSUMO NELLA VALUTAZIONE DELL'ESPOSIZIONE A SOSTANZE CONTAMINANTI: RUOLO E CRITICITÀ

Turrini A., Sette S., Le Donne C., Ferrari M., Mistura L., Comendador F.J., Piccinelli R., D'Addezio L., Pettinelli A., Martone D., Catasta G.

Centro di Ricerca Alimenti e Nutrizione, Consiglio per la Ricerca in Agricoltura e l'Analisi dell'Economia Agraria, Roma

Il consumo alimentare espresso in termini di quantità assunte giornalmente in media costituisce il dato di partenza per stimare l'esposizione all'assunzione di sostanze non desiderabili. Ogni tipo di rilevazione a carattere nutrizionale (stima della quantità media in grammi o millilitri di alimenti assunti giornalmente) ha pregi e difetti (<https://www.springer.com/la/book/9781447118305>) e questo, nell'immediato, pone il problema della scelta della metodologia più adatta a raggiungere l'obiettivo dello studio oltre, naturalmente, a richiedere un sistema di dati e di procedure di elaborazione idonee a stimare assunzione in alimenti, in nutrienti e componenti alimentari, l'esposizione a sostanze non desiderabili e l'impatto ambientale della dieta. (<http://sito.entecra.it/portale/public/documenti/monografia-palingenio.pdf>). Le diverse tipologie di dati pongono un problema di comparabilità e, quindi, interoperabilità. L'European Food Safety Authority (EFSA) ha sviluppato le linee guida specifiche per gli studi condotti su scala nazionale (<https://www.efsa.europa.eu/it/efsajournal/pub/3944>).

Evidenziare ruolo e criticità dei dati di consumo alimentare disponibili nella valutazione dell'esposizione a rischio di assunzione di sostanze indesiderabili.

Analisi delle potenzialità delle tipologie di dati sui consumi alimentari individuali disponibili e in relazione alle specifiche necessità della stima dell'esposizione.

Risultati. I consumi alimentari individuali rappresentano la base di dati che insieme ai monitoraggi sulla presenza delle sostanze chimiche e sulle zoonosi permettono di stimare l'esposizione per la successiva valutazione del rischio. I dati sui consumi individuali registrati al massimo livello di dettaglio consentono di applicare dati di presenza nei campioni, forniti nei monitoraggi o dagli studi sulla dieta totale. Utilizzando la metodologia condivisa e validata, l'incertezza derivante dalla mancanza di standardizzazione viene minimizzata garantendo una buona affidabilità dei dati. Resta comunque la maggiore criticità relativa alla rappresentatività della rilevazione che richiede in molti casi una numerosità campionaria estremamente elevata e una stratificazione molto articolata (es. per le micotossine dovrebbe essere prevista una suddivisione territoriale per livelli di umidità ambientale). La seconda criticità è relativa alla mancanza di un sistema di monitoraggio dei consumi alimentari individuali ai fini dell'aggiornamento a cadenza regolare dei dati.

Le basi teoriche e concrete dello sviluppo di sistemi informativi a carattere scientifico per l'analisi dei dati sono state sviluppate. Il lavoro di ricerca nel futuro dovrà essere, invece, strutturato e incorporato nel sistema statistico per garantire continuità nell'aggiornamento.

RUOLO DEGLI STUDI DI BIOMONITORAGGIO NELLA VALUTAZIONE DELL'ESPOSIZIONE ALLE MICOTOSSINE: I PROGETTI BIODAF E HBM4EU

De Santis B. (a), Debegnach F. (a), Sonego E.a, Mazzilli G. (a), Ferri F. (b), Viegas S. (c), Alvito P. (d), Martins C. (d), Brera C. (a)

(a) Dipartimento di Sicurezza Alimentare, Nutrizione e Sanità Pubblica Veterinari, Istituto Superiore di Sanità, Roma

(b) SPSAL AUSL, Reggio Emilia

(c) Lisbon School of Health Technology, Lisbona, Portogallo

(d) Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Lisbona, Portogallo

Lo sviluppo e la validazione dei biomarcatori rappresentano due degli obiettivi chiave della ricerca, finalizzata all'acquisizione di informazioni attendibili sia per valutare specifici eventi di esposizione o malattie nella popolazione, sia per misurare l'efficacia delle strategie di intervento mirate a ridurre l'esposizione e i rischi. Per un certo numero di contaminanti ambientali questo approccio è già ben avviato e sviluppato, per le micotossine il biomonitoraggio è un ambito di interesse crescente. La disponibilità sempre maggiore di tecniche analitiche ad alta risoluzione in combinazione con metodi multi-tossina e la possibilità di avere bassi limiti di rilevazione, ha reso il biomonitoraggio un approccio utile, accessibile e sensibile, seppur affetto da alcune incertezze. Nell'ambito degli studi di biomonitoraggio per le micotossine, vengono presentati due esempi di progetti di cooperazione: il progetto BIODAF (EFSA project "The biomonitoring data as a tool for assessing AFB1 exposure of workers"), e il progetto HBM4EU (Human biomonitoring for EU H2020 project). BIODAF si è posto tre obiettivi principali: 1) confermare la validità degli studi di biomonitoraggio nella valutazione dell'esposizione all'Aflatossina B₁ in gruppi di lavoratori potenzialmente esposti alle micotossine attraverso l'inalazione e/o contatto cutaneo di polveri contaminate; 2) produrre una accurata valutazione dell'esposizione e del rischio di questi gruppi di popolazione, considerando la frazione derivata dall'ambiente di lavoro; 3) contribuire ad ottenere dati più completi e aggiornati per orientare le azioni di gestione volte a minimizzare il rischio e a migliorare le condizioni di lavoro e la salute dei lavoratori. Operativamente, il progetto è stato strutturato in due studi paralleli, uno condotto in Italia e il secondo in Portogallo, entrambi basati su dati ed osservazioni di studi analoghi. HBM4EU rappresenta una nuova collaborazione tra scienziati, valutatori e gestori del rischio, che include la Commissione europea, le agenzie dell'UE e rappresentanti nazionali. Il progetto si pone l'obiettivo di facilitare il dialogo fra la ricerca e il mondo della politica, al fine di apportare benefici alla società in termini di maggiore sicurezza chimica. Il consorzio, dopo la prima definizione della lista delle sostanze con priorità per il 2016-2018, ha elaborato una strategia di programmazione dove le micotossine sono state selezionate come gruppo di sostanze prioritarie per il 2019-2020. Data l'ampia varietà di composti

compresi nel gruppo delle micotossine e secondo il parere del consiglio di amministrazione dell'UE, dell'EFSA e della DG SANTE, l'attenzione è stata posta sul DON e sulla FB1.

LA VALUTAZIONE DEL RISCHIO DI TOSSICITÀ DERIVANTE DA MISCELE DI MICOTOSSINE: L'APPROCCIO MYCHIF

Battilani P. (a), Dall'Asta C. (b), Brera C. (c), Campbell K. (d), Crisci A. (e), Della Fiora L. (b), De Santis B. (c), Gkrillas A. (b), Gonçalves A. (f), Oswald I.P. (g), Palumbo R. (a), Toscano P. (e), Venancio A. (f), Dorne J.L. (h)

(a) Università Cattolica del Sacro Cuore, Piacenza

(b) Università degli Studi, Parma

(c) Dipartimento di Sicurezza Alimentare, Nutrizione e Sanità Pubblica Veterinaria, Istituto Superiore di Sanità, Roma

(d) The Queens University of Belfast, Belfast, Irlanda del Nord

(e) Istituto di Biometereologia, Consiglio Nazionale delle Ricerche, Firenze

(f) Centre of Biological Engineering, University of Minho, Minho, Portogallo

(g) Research Centre in Food Toxicology, Université de Toulouse, Purpan, Francia

(h) European Food Safety Authority, Parma

Le micotossine sono contaminanti naturali che possiamo trovare in molti prodotti agricoli utilizzati a scopo alimentare per l'uomo e gli animali. Le micotossine sono prodotti del metabolismo fungino, influenzato dall'interazione pianta-patogeno. Pertanto, molti congeneri strutturalmente correlati, definiti come micotossine modificate, sono generati dal metabolismo di piante e/o funghi o dall'elaborazione degli alimenti e coesistono con le loro forme native. Gli studi che hanno esaminato la co-presenza di diverse micotossine hanno riportato il 75%-100% dei campioni contenenti più di una micotossina, con riferimento a composti nativi e al 100% con riferimento a forme modificate. Il progetto di ricerca MYCHIF sta sviluppando metodologie di modellizzazione integrate e innovative per la valutazione del rischio delle miscele di micotossine negli alimenti e nei mangimi. Particolari sforzi sono stati dedicati all'indagine e alla comprensione di sistemi complessi e all'identificazione di conoscenze e lacune nei dati. Sono state condotte ricerche bibliografiche approfondite per identificare e raccogliere dati scientifici rilevanti riguardo a (i) interazione pianta-patogeno, (ii) variabili che influenzano la sintesi di micotossine, (iii) la loro co-presenza nelle principali colture e (iv) Tossicocinetica (TK) e Tossicodinamica (TD) inclusi biomarcatori di esposizione ed effetti negli animali da allevamento e nell'uomo. Sono state considerate le differenze sui parametri tossicocinetici e tossicodinamici delle singole micotossine vs micotossine copresenti. Sono state identificate le lacune per ciascuna area di raccolta dei dati. Sulla base dei dati disponibili, sono stati sviluppati approcci modellistici utilizzando i dati TK e TD per singole micotossine e sono state fatte ipotesi riguardo alla tossicità combinata. Al fine di validare gli approcci di modellizzazione, sono state eseguite analisi di casi studio. È stato quindi proposto un flusso di lavoro per la valutazione del rischio alimentare di micotossine co-presenti, nonché linee guida per lavori futuri per colmare le lacune di dati identificate nel progetto. Lavoro finanziato da EFSA, finanziamento articolo 36, GA/EFSA/AFSCO/2016/01-02.

RICERCA E SVILUPPO DI UNA FARINA INNOVATIVA DESTINATA AI BAMBINI DI SECONDA E TERZA INFANZIA

Brera C. (a), Gregori E. (a), De Santis B. (b), Pantanali A. (b), Monti M. (c)
(a) Dipartimenti di Sicurezza Alimentare, Nutrizione e Sanità Pubblica Veterinaria, Istituto Superiore di Sanità, Roma
(b) Azienda Molino Moras, Trivignano Udinese, Udine
(c) Miller's Mastery, Sassoleone di Casalfiumanese, Bologna

Il presente studio nasce nell'ambito di un accordo di collaborazione tra l'Istituto Superiore di Sanità e il Molino Moras, azienda molitoria del nord Italia, per la realizzazione di un progetto di ricerca finanziato dalla Regione Friuli-Venezia Giulia.

L'idea progettuale nasce dalla considerazione che i livelli di esposizione corrispondenti ai livelli di legge fissati dal Regolamento (CE) n.1881/2006 per il Deossinivalenolo (DON) nel grano tenero e nei prodotti derivati, comportano una significativa esposizione dei bambini oggetto di questo studio a livelli superiori alla dose tossicologica di riferimento (TDI). Utilizzando, infatti, i dati di consumo ufficiali dello studio INRAN-SCAI per la matrice farina e per i prodotti derivati, il livello di contaminazione pari al limite di legge ed il peso corporeo medio dei bambini di età compresa tra i 3 ed i 10 anni, si ottiene una esposizione prossima alla (TDI) di 1 µg/kg peso corporeo al giorno ed un superamento di circa tre volte la TDI nel caso di bambini forti consumatori.

Pertanto, l'obiettivo generale è stato quello di produrre una farina innovativa caratterizzata da un elevato livello di sicurezza alimentare tale da essere destinata al consumo di prodotti alimentari derivati da parte di bambini di età compresa tra 3 e 10 anni.

Il progetto si è prefissato di caratterizzare il profilo del Deossinivalenolo (DON), di metalli pesanti ed elementi in traccia (piombo, cadmio, arsenico), di sostanze allergizzanti (soia), fitofarmaci (piretroidi e organofosforici) e agenti patogeni (salmonella, *Escherichia Coli*, muffe ed Enterobatteri) in farine di elezione prodotte in azienda. Lo studio si è posto i seguenti obiettivi specifici: i) valutazione del trasferimento (ed eventuale abbattimento) nel passaggio dal grano tenero alla farina e nel passaggio dalla farina a prodotti derivati quali pasta all'uovo, pane, focaccia, grissini, biscotti, torta, ii) valutazione dell'esposizione da parte dei bambini di età compresa tra 3 e 10 anni al DON derivante dal consumo dei prodotti finiti prodotti a partire dalla farina innovativa. I risultati ottenuti hanno dimostrato la fattibilità del raggiungimento dell'obiettivo dello studio, in quanto è stato possibile produrre una farina innovativa caratterizzata da livelli di Deossinivalenolo tali da garantire un livello di piena sicurezza d'uso del prodotto. Infatti, tutti i prodotti finiti preparati a partire dalla farina prodotta hanno mostrato livelli di contaminazione tali da mantenere l'esposizione media per i bambini inferiore al 50% della TDI.

VALUTAZIONE DEL RISCHIO DELLE MICOTOSSINE

Macri A. (a), Bernardi M. (b)

(a) *Unione Nazionale Consumatori, Roma*

(b) *Università Campus Bio-Medico, Roma*

Il numero di micotossine è molto elevato e, al momento attuale, se ne conoscono in misura relativamente ridotta. Le nuove nonché sempre più accurate e precise tecniche analitiche stanno contribuendo ad accrescere le conoscenze sulla loro natura e sulla loro diffusione. Le informazioni note sulla pericolosità rappresentata dalla presenza delle micotossine come contaminanti alimentari risultano essere limitate a un numero esiguo delle specie conosciute e sono il frutto di ricerche indipendenti. Inoltre, la carenza di informazioni scientifiche, non sempre consente una adeguata valutazione dei rischi.

Fortunatamente la concentrazione delle micotossine sconosciute o poco conosciute nei prodotti alimentari, è generalmente molto bassa e, presumibilmente, il rischio che provochino danni significativi alla salute dei cittadini dovrebbe essere modesto. Nonostante ciò, prevale sempre la preoccupazione per i possibili danni ai consumatori nonché, in assenza di valutazioni dei rischi certe, prevale il principio di precauzione. Esso tende a generare una cospicua quantità di perdite e sprechi alimentari che potrebbe essere in gran parte evitata ricorrendo ad usi alternativi, seppur ciò accade raramente. Risulta pertanto di fondamentale importanza sostenere e porre in essere delle misure di prevenzione che siano utili ed efficaci, a partire dalle colture in campo e successivamente lungo tutte le fasi produttive della filiera.

Alla luce di quanto finora espresso, di fatto rivestono un ruolo centrale la promozione e lo sviluppo di studi scientifici aventi come obiettivo sia quello di prevenire il più possibile la contaminazione degli alimenti sia quello di “recuperare” i prodotti potenzialmente contaminati, limitando così il più possibile il fenomeno legato allo spreco alimentare.

Sessione Poster
Lunedì 10 giugno 2019

P1 ESTRAZIONE UNICA IN ACQUA, PER LA QUANTIFICAZIONE DI NOVE MICOTOSSINE USANDO LA TECNOLOGIA BIO-SHIELD ELISA

Tsaridou C., Badra K., Natsaridis N., Nikolopoulou E., Ntantasios A.N., Papageorgiou G., Athanasiou S.D.

Dipartimento di Ricerca e Sviluppo, Prognosis Biotech S.A., Larissa, Grecia

Introduzione: Le Aflatossine (AF) (AFB₁, AFB₂, AFG₁ e AFG₂) sono metaboliti tossici di massimo interesse per l'industria alimentare, principalmente prodotte dai funghi *Aspergillus flavus*. Le Ochratossine (OT) (OTA, OTB e OTC) sono anche un gruppo di micotossine prodotte da alcune specie di *Aspergillus A.* L'AFB₁ e l'OTA sono le forme più tossiche e le più frequentemente rilevate. Deossinivalenolo (DON), Zearalenone (ZON), Fumonisine (FB) (la FB₁ è la forma più tossica) e T-2 / HT-2 tossine sono membri delle micotossine trichotecene prodotte da funghi del genere *Fusarium*. Queste micotossine possono esercitare effetti nocivi quali immunosoppressivi, mutageni, teratogeni o cancerogeni e sono considerate tossiche per gli esseri umani e gli animali. La maggior parte delle agenzie governative di controllo in tutto il mondo hanno regolamenti in merito alla quantità di micotossine ammissibili nei prodotti alimentari umani ed animali. La determinazione accurata e rapida della presenza di ogni micotossina nelle materie prime è di fondamentale importanza.

Scopo. Lo scopo del presente studio è stato quello di valutare i livelli di recupero dell'Aflatossina totale (AFB₁, AFB₂, AFG₁ e AFG₂), l'Ochratossina A, il Deossinivalenolo, il Zearalenone, le Fumonisine e le tossine T-2 / HT-2 nei campioni di mais e alimentazione animale, usando lo stesso estratto dopo una estrazione singola con una soluzione ecologica mediante la tecnologia Bio-Shield ELISA.

Metodi. I livelli di ciascuna famiglia di micotossine sono stati determinati mediante la tecnologia Bio-Shield ELISA, basata sull'uso di anticorpi ricombinanti. L'Aflatossina totale, l'OTA, il DON, il ZON, le Fumonisine e le tossine T-2 e HT-2, sono state analizzate con lo stesso protocollo (5 min). Tutti i metodi usano lo stesso estratto dopo una estrazione singola con una soluzione ecologica. I risultati sono stati confrontati con quelli ottenuti con il prodotto Bio-Shield Total ES / B2396 / B2396035, Bio-Shield Ochratoxin A / B2496 / B2496037, Bio-Shield DON M.E. / B3896 / B3896011, Bio-Shield ZON / B2796 / B2796036, Bio-Shield Fumonisin / B2896 / B2896029 e Bio-Shield T-2/HT-2 / B3296 / B3296018 (uso di metanolo 70%) rispettivamente.

Risultati. Diversi materiali di riferimento (mais ed alimentazione animale) sono stati utilizzati, includendo tutte le micotossine. Dopo la singola estrazione con la soluzione ecologica, tutte le micotossine sono state analizzate mediante la tecnologia Bio-Shield ELISA. Questi risultati concordano con i risultati ottenuti con i prodotti, usando metanolo come soluzione di estrazione. È stato dimostrato che i livelli di recupero sono eccellenti.

Conclusione. La compatibilità della singola estrazione, usando una soluzione ecologica con la tecnologia Bio-Shield ELISA è uno strumento prezioso per la quantificazione di tutte le micotossine.

P2 VALIDAZIONE DI UN METODO ELISA QUANTITATIVO PER LA RICERCA DI AFLATOSSINA M₁ SULLE MATRICI LATTE, FORMAGGIO E BURRO

Biancardi A., Moretti A.

Reparto Chimica degli Alimenti e dei Mangimi, Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia-Romagna, Brescia

Data l'elevata potenzialità delle determinazioni ELISA in termini di produttività ossia analisi di un numero elevato di campioni in tempi brevi, si è voluto validare un metodo ELISA per la ricerca e la determinazione *quantitativa* di Aflatossina M₁ sulle matrici latte, formaggio e burro. Utilizzando sia campioni drogati che matrici di riferimento, il metodo è stato validato su un ampio intervallo di concentrazioni, anche di molto superiori ai limiti di tolleranza normati e/o consigliati per le matrici prese in esame. Infatti il campo di validazione è 5÷100 ng/kg, 75÷475 ng/kg e 20÷80 ng/kg per la matrice latte, formaggio e burro rispettivamente. Il recupero complessivo è stato 108% (CV=9,2%) per il latte, 102% (CV=5,8%) per il formaggio e 102% (CV=8,1%) per il burro. È stata inoltre calcolata, mediante approccio *bottom-up*, l'incertezza di misura pari a 20,6% (fattore di copertura k=1,99, P=95%, gradi di libertà v=75) per la matrice latte, 22,3% (fattore di copertura k=2,01, P=95%, gradi di libertà v=45) per la matrice formaggio e 33,1% (fattore di copertura k=2,03, P=95%, gradi di libertà v=36) per la matrice burro. Il metodo si è dimostrato idoneo in termini di sensibilità, precisione e accuratezza anche a concentrazioni di Aflatossina M₁ relativamente alte; è applicato routinariamente. Oltre alla produttività analitica, tale metodo presenta altre potenzialità e ben si presta a possibili applicazioni, quali ad esempio studi di trasferimento dell'Aflatossina M₁ dal latte ai prodotti derivati seguendo le varie fasi di lavorazione e maturazione del prodotto caseario.

P3 APPLICAZIONE DELLA TECNICA LC-MS/MS FINALIZZATA ALLO SCREENING E ALLA CONFERMA DI MICOTOSSINE NEI MANGIMI

Biancardi A., Piazza P.

Reparto Chimica degli Alimenti e dei Mangimi, Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia-Romagna, Brescia

Data la necessità di effettuare un sempre maggior numero di controlli ufficiali/conoscitivi sulla presenza di micotossine nei mangimi, è stato messo a punto e applicato nell'attività routinaria un metodo veloce di screening multiresiduale LC-MS/MS (approccio "dilute&shoot"). Le micotossine prese in esame sono Aflatossina B₁, Ocratossina A, Zearalenone, Deossinivalenolo, Fumonisina B₁, Fumonisina B₂, Tossina T-2, Tossina HT-2. Il metodo è stato validato esclusivamente impiegando Matrici di Riferimento Certificate con ottimi risultati in termini di sensibilità, accuratezza (z-score) e precisione (CV%). La percentuale dei falsi negativi e falsi positivi è nulla, mentre la quota di sovrastime (z-score >2) è inferiore al 5%.

Oltre al metodo di screening sono presentati i metodi di conferma "mirati" alle singole micotossine e applicati nell'attività routinaria. Trattasi di metodi LC-MS/MS che comportano una fase di estrazione, seguita da una purificazione veloce (15 sec) mediante percolazione su colonnine *mycosep* dedicate alle diverse micotossine, ad eccezione delle Fumonisine per le quali non è applicabile un *clean-up* su *mycosep* ma si opera una opportuna diluizione. I singoli metodi di conferma sono stati validati utilizzando sia Matrici di Riferimento Certificate che campioni opportunamente drogati in un ampio intervallo di concentrazione. Ogni metodo è risultato perfettamente idoneo allo scopo in termini di sensibilità, accuratezza e precisione; per ogni metodo è stata inoltre calcolata l'incertezza di misura.

P4 AN ANALYTICAL METHODOLOGY TO DETERMINE THE FATE AND BEHAVIOR OF DON DURING THE PRODUCTION OF BAKERY PRODUCTS

Stadler D. (a), Lambertini F. (c), Buesch C. (a), Schuhmacher R. (a), Suman M. (c), Berthiller F. (a), Cavandoli E. (c), Krska R. (a,b)

(a) *Department of Agrobiotechnology, University of Natural Resources and Life Sciences, Vienna, Tullin, Austria*

(b) *Institute for Global Food Security, School of Biological Sciences, Queens University Belfast, Belfast, Irlanda del Nord*

(c) *Barilla G.R. F.lli SpA, Parma*

Deoxynivalenol (DON) is the most prevalent mycotoxin in cereal commodities. Although the population of industrial nations is exposed to DON mainly due to the consumption of bread and other bakery wares, the impact of the baking process on DON is unclear. After 30 years of research, the knowledge of degradation products that are formed from DON during baking and their toxicity is still incomplete. Furthermore, the extent of possible DON reduction is highly controversial. Although most studies found a reduction of DON, some even up to 50 %, increases of up to 40 % were also reported. This high variation can be partially ascribed to:

- different study designs (e.g. fortified flour vs. naturally contaminated flour);
- errors in the calculation of the DON degradation (e.g. the change of moisture content was not accounted for);
- and a high analytical variance (e.g. not accounting for different recoveries between individual matrices).

To determine the fate and behavior of DON during the industrial production of bakery wares we developed an analytical methodology which enable us to determine a mass balance of DON and its degradation products. First, we elucidated the full spectrum of DON degradation products using a ¹³C isotope-assisted untargeted liquid chromatography high resolution mass spectrometry approach. Second, we developed a targeted LC-tandem Mass Spectrometry (MS/MS) based method, which enabled us to accurately quantify DON degradation and the increase of the degradation products during the production of crackers, biscuits and bread. The development of the currently most accurate analytical methodology to determine DON degradation enabled us to clarify the fate and behavior of DON during the production of different baking commodities (i.e. crackers, biscuits and bread). During the production of bakery products from artificially contaminated flour, DON was partially degraded to isoDON, norDON B and norDON C. A complete mass balance of the degradation of DON and the increase of its degradation products was obtained. DON degradation was found to be in the range of 2-6 %, depending on the bakery commodity.

This project has received funding from the European Union's Horizon 2020 research and innovation programme under grant agreement No. 678012 for the MyToolBox project.

P5 MICOTOSSINE E ANALISI QUANTITATIVA MEDIANTE TECNOLOGIA LATERAL FLOW

Colangelo A.M.
Generon S.p.A., San Prospero, Modena

Alcuni tipi di funghi, principalmente quelli appartenenti ai generi *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium*, in condizioni particolari di temperatura e umidità proliferano e possono produrre micotossine. Le micotossine sono sostanze tossiche e cancerogene che possono entrare nella filiera alimentare attraverso colture contaminate, principalmente di cereali, destinate alla produzione di alimenti e mangimi. Le micotossine hanno anche un forte impatto economico sull'allevamento in quanto possono causare tumori, riduzione della fertilità, rallentamento dell'incremento ponderale, aborti e malformazioni fetali. Alcune micotossine sono, inoltre, immunosoppressive e riducono la resistenza alle malattie infettive. I tenori massimi di micotossine e di altri contaminanti negli alimenti sono stabiliti nel Regolamento (CE) n. 1881/2006 e successive modifiche. *QuickScanII* è un sistema analitico di ultima generazione che consente ad agricoltori, stoccatore, essiccatori ed altri operatori della filiera agricola e alimentare di rilevare e quantificare la presenza di micotossine nelle principali materie prime in ingresso. Lo strumento offre diversi vantaggi amplificando e migliorando quelli della tecnologia *Lateral Flow*: lettura immediata delle strip e registrazione dei risultati in pochi secondi; possibilità di quantificare diverse micotossine in un'unica analisi; possibilità di analizzare sia singole strip sia combinazioni multi-strip per micotossine o OGM utilizzando un unico sistema; standard quantitativi integrati in un sistema a codice a barre univoco contenente la calibrazione lotto specifica che garantisce accuratezza di misurazione eliminando la necessità di calibrazione; risultati immediatamente disponibili per archiviazione, stampa, condivisione via mail o analisi dei trend. Tra le micotossine ritroviamo le Aflatossine e, in particolare, l'Aflatossina B₁ (AFB₁) che se ingerita viene metabolizzata determinando la produzione di Aflatossina M₁ (AFM₁), un metabolita idrossilato che ha un impatto rilevante sulla salute umana per la sua caratteristica di essere una forma metabolica facilmente trasportabile attraverso il circolo sanguigno. Questa micotossina può essere presente nel latte di animali in lattazione che hanno consumato mangimi contaminati da AFB₁. Il kit Aflatossina M₁ Quantitativo LFD96M1TOP combinato al lettore portatile *BenchTopReader* permette un monitoraggio quotidiano della contaminazione di AFM₁ nella filiera lattiero-casearia. In pochi minuti e con una semplice esecuzione di analisi si ottengono risultati quantitativi accurati, ripetibili e riproducibili grazie a curve di calibrazione lotto-specifiche costruite nei laboratori di Generon SpA e fornite con il kit. I risultati vengono immediatamente mostrati sullo schermo del lettore, archiviati nella memoria dello strumento e possono essere facilmente trasferiti su computer grazie ad uno specifico software, rendendo così semplici i processi di archiviazione, di condivisione e di analisi dei risultati.

P6 METODO MULTIRESIDUALE RAPIDO PER L'ANALISI DI MICOTOSSINE IN ALIMENTI E MANGIMI

Luciani G.P., Francioni C., De Cesare L.
Tentamus Agriparadigma srl, Ravenna

Il laboratorio ha sviluppato e validato un metodo di analisi multiresiduale (LC/MS/MS) che consente di analizzare diverse micotossine in alimenti e mangimi.

L'effetto matrice, che solitamente si presenta in metodi di questo tipo, è stato contenuto attraverso la diluizione del campione. Inoltre si sono utilizzati standard omologhi marcati isotopicamente che hanno permesso di compensare e di correggere disomogeneità dell'estrazione.

Questo ha consentito di ottenere un metodo veloce, robusto ed affidabile, particolarmente efficace per analisi di routine su grandi numeri di campioni.

Il metodo è stato validato ed accreditato in accordo alla ISO 17025:2018

P7 SPETTROSCOPIA INFRAROSSA PER L'ANALISI RAPIDA DI CAMPIONI DI FRUMENTO E CRUSCA CONTAMINATI DA MICOTOSSINE

De Girolamo A. (a), Cortese M. (a), von Holst C. (b), Cervellieri S. (a), Pascale M. (a), Longobardi F. (c), Catucci L. (c), Logrieco A.F. (a), Porricelli A.C.R. (a), Lippolis V. (a)

(a) *Istituto di Scienze delle Produzioni Alimentari, Consiglio Nazionale delle Ricerche, Bari*

(b) *Joint Research Centre, European Commission, Geel, Belgio*

(c) *Dipartimento di Chimica, Università degli Studi, Bari*

Il frumento rappresenta il principale cereale consumato in tutto il mondo tipicamente sotto forma di pane, pasta, cereali per colazione, biscotti, torte e pasticcini. Anche la crusca viene considerata un alimento importante per l'alimentazione umana in quanto ricco di fibre e numerosi oligoelementi. Tuttavia i cereali sono soggetti a contaminazione da micotossine e tra queste vanno menzionate, per tossicità e frequenza di contaminazione, l'Ocratossina A (OTA) e il Deossinivalenolo (DON). Al fine di preservare l'esposizione del consumatore alle micotossine la Commissione Europea ha definito i tenori massimi ammissibili di micotossine nei cereali e prodotti derivati (Regolamento (CE) n. 1881/2006). Per tale ragione si rende necessaria la disponibilità di metodi rapidi di screening per valutare la conformità dell'alimento alla legislazione vigente e ridurre il numero di campioni da sottoporre ad analisi di conferma. La spettroscopia Infrarossa (IR) è una tecnica non distruttiva, rapida, facile da utilizzare, poco costosa e che non richiede una particolare preparazione del campione; è largamente impiegata nell'industria alimentare per il controllo qualità, e solo recentemente è stata applicata all'analisi di funghi e micotossine nei cereali. Presso i laboratori dell'ISPA-CNR è stata valutata la possibilità di usare la spettroscopia IR a trasformata di Fourier nel vicino (FT-NIR) e medio (FT-MIR) infrarosso per la classificazione di campioni di frumento e crusca di frumento in due classi sulla base dei livelli di contaminazione rispettivamente di OTA (n=229 campioni) e DON (n=94 campioni). I campioni sono stati analizzati utilizzando due modelli statistici multivariati di classificazione (PCA-LDA e PLS-DA) al fine di individuare quello più appropriato. Per la discriminazione dei campioni in due classi si è scelto un valore soglia pari a 2 µg/kg di OTA per il frumento e a 400 µg/kg di DON per la crusca di frumento, entrambi ben al di sotto dei tenori massimi ammissibili. Ciascun modello è stato sviluppato utilizzando il 70% circa dei campioni del set e validato sul restante 30%. A seconda dell'intervallo spettrale considerato (FT-NIR e FT-MIR) e dei due approcci statistici impiegati, nel caso dell'OTA si è ottenuta in validazione (predizione) una discriminazione totale (DT) fino al 96%, con un tasso di "falsi negativi" (FC) e di "falsi sospetti" (FNC) entrambi fino al 6%. Similmente, nel caso del DON si è ottenuta una DT fino al 91%, con FC fino all'8% e FNC fino al 27%. Dai risultati ottenuti si evince che la spettroscopia FT-IR è una promettente tecnica da impiegare per la discriminazione di campioni di frumento e di crusca contaminati da DON e OTA a determinati valori di soglia e poter così valutare la loro conformità con la regolamentazione vigente.

P8 CONFRONTO TRA IL METODO ELISA E UPLC/FLD PER LA DETERMINAZIONE DI T-2 / HT-2 NEI CEREALI

D'Agnello P. (a), Brera C. (b), Debegnach F. (b), Urbano L. (c), Curiale A. (c), Franchino C. (a), De Pace R. (a)

(a) *Struttura Semplice Micotossine e Tecniche Immunoenzimatiche, Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Puglia e della Basilicata, Foggia*

(b) *Dipartimento di Sicurezza Alimentare, Nutrizione e Sanità Pubblica Veterinaria, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

(c) *Dipartimento di Prevenzione, ASL, Foggia*

Le tossine T-2 e HT-2 sono metaboliti secondari di varie specie di *Fusarium*. Queste molecole possono avere effetti tossici per la salute umana e animale. Per rilevare la loro presenza nei cereali, sono stati implementati e validati metodiche di screening, immunoenzimatici ELISA, e strumentali di conferma, utilizzando la cromatografia liquida a fluorescenza (UPLC/FLD). I metodi sviluppati sono stati testati su cento campioni di cereali al fine di valutare sia lo screening ELISA, utile per testare più campioni con abbattimento di costi e tempi di analisi che il metodo di conferma UPLC/FLD. In entrambi i metodi abbiamo rilevato buoni prestazioni per sensibilità, linearità, selettività, precisione e robustezza, come riportato nella Decisione 2002/657/CEE e nel Regolamento (CE) n. 401/2006. Il confronto tra i due metodi ha evidenziato, anche, un buon coefficiente di correlazione (R^2), pari a 0,9056, che conferma ulteriormente la loro validità sia per le analisi di screening che di conferma nei cereali.

P9 VALIDAZIONE DI UN TEST IMMUNOCROMATO- GRAFICO PER LA DETERMINAZIONE QUANTITATIVA DELL' AFLATOSSINA M₁ IN LATTE DI VACCA, BUFALA, PECORA E CAPRA

Guarducci N. (a,b), Lattanzio V.M.T. (a), Ooghe S. (c), Reybroeck W. (c)

(a) *Consiglio Nazionale delle Ricerche, Istituto di Scienze delle Produzioni Alimentari, Bari*

(b) *SafeFood-Eurolab srl, Parma*

(c) *Flanders research institute for Agriculture, Fisheries and Food, ILVO-T&V, Melle, Belgio*

Il monitoraggio dei livelli di Aflatossina M₁ nel latte crudo rappresenta un punto critico nei piani di autocontrollo delle aziende lattiero-casearie. Oltre all'elevata sensibilità richiesta per il rilevamento dell'Aflatossina M₁ nel latte, la principale sfida analitica nello sviluppo e applicazione dei test di screening è quella di renderli affidabili e robusti per l'uso in laboratorio e sul campo. Ciò significa affrontare le differenze tra matrice e matrice, condizioni ambientali, abilità dell'operatore, riproducibilità da lotto a lotto. Un'ulteriore sfida per gli operatori del settore lattiero-caseario è inoltre quella di determinare l'Aflatossina M₁ nel latte di specie animali diverse, come vacca, bufala, capra e/o pecora. Per una valutazione oggettiva delle prestazioni analitiche dei test di screening è opportuno riferirsi a programmi di valutazione armonizzati e riconosciuti a livello nazionale e/o internazionale.

Il test immunocromatografico AFLAM₁-V è stato validato per la valutazione della sua applicabilità come test di screening semi-quantitativo per la determinazione dell'Aflatossina M₁ nel latte a livelli prossimi al limite massimo ammissibile di 50 ng/kg (Regulation 1881/2006/EC). Lo studio di validazione è stato condotto in collaborazione con l'istituto di ricerca belga ILVO-T&V (Flanders research institute for agriculture, fisheries and food). Obiettivo dello studio di validazione, effettuata in accordo con quanto definito nella Decisione della Commissione 2002/657/EC, è stato quello di valutare parametri analitici quali capacità di rivelazione, selettività, robustezza, influenza della composizione del latte (parametri di qualità), influenza della specie (vacca, bufala, pecora, capra), variabilità tra lotti di produzione. I risultati hanno mostrato che il test AFLAM₁-V risulta affidabile e idoneo allo screening semi-quantitativo dell'Aflatossina M₁ nel latte ai fini dell'autocontrollo nelle aziende lattiero-casearie.

P10 IMMUNOSAGGI BASATI SULLA POLARIZZAZIONE DI FLUORESCENZA PER LA DETERMINAZIONE DI TOSSINE DI *FUSARIUM* E LORO FORME MODIFICATE IN FRUMENTO

Lippolis V. (a), Porricelli A.C.R. (a) Mancini E. (a), Lattanzio V.M.T. (a), Ciasca B. (a), De Girolamo A. (a), De Saeger S. (b), Maragos C.M. (c), McCormick S. (c), Li P. (d), Logrieco A.F. (a), Pascale M. (a)

(a) *Istituto di Scienze delle Produzioni Alimentari, Consiglio Nazionale delle Ricerche, Bari*

(b) *Ghent University, Ghent, Belgio*

(c) *Agricultural Research Service, U.S. Department of Agriculture, Peoria, USA*

(d) *Oil Crops Research Institute of the Chinese Academy of Agricultural Sciences, Wuhan, Cina*

Nei cereali ed in particolare nel frumento, il Deossinivalenolo (DON), per l'elevata incidenza di contaminazione, e le tossine T-2 (T-2) e HT-2 (HT-2), per la loro tossicità, rappresentano le tossine di *Fusarium* di maggiore rilevanza, con notevoli ripercussioni sia di carattere socio-economico che sanitario. Inoltre, diversi studi hanno evidenziato la possibilità di ritrovare tali micotossine in combinazione con diverse loro forme modificate. Nel caso del DON le principali forme modificate ritrovate sono il 3-acetil-Deossinivalenolo (3Ac-DON), 15-acetil-Deossinivalenolo (15Ac-DON) ed il Deossinivalenolo-3-glucoside (DON3G). Nel caso di T-2 e HT-2 vanno principalmente menzionati T-2 glucoside (T-2G) e HT-2 glucoside (HT-2G). Per tale ragione, lo sviluppo di metodi rapidi, sensibili ed accurati in grado di determinare simultaneamente le micotossine e le loro forme modificate ha un elevato impatto in quanto consente di valutare il rischio di esposizione a questi contaminanti naturali e potrebbe rispondere ad una futura legislazione. Nell'ambito del progetto MycoKey (EU, H2020), sono stati sviluppati e validati due immunosaggi basati sulla polarizzazione di Fluorescenza (FP) per la determinazione rapida (<15min) e quantitativa (espressa come somma), in frumento, di: (i) DON, 3Ac-DON, 15Ac-DON e DON3G; (ii) T-2, HT-2, T-2G e HT-2G. Sono stati ottimizzati diversi protocolli di estrazione, alcuni dei quali non prevedono l'uso di solventi organici. I metodi sviluppati hanno mostrato prestazioni analitiche in termini di recuperi (89-112%) e precisione ($\leq 13\%$) che soddisfano i criteri di accettabilità dei metodi di analisi per la determinazione quantitativa delle micotossine stabiliti dall'UE (Reg. 519/2014). Inoltre, gli immunosaggi FP sono stati sottoposti a validazione anche come metodi di screening semi-quantitativo in accordo con la Regolamentazione N. 519/2014. Le prestazioni analitiche in termini di ripetibilità ($\leq 9\%$), precisione intermedia ($\leq 13\%$), livelli di valore soglia (cut-off) ed tasso di risultati falsi sospetti (<0,1%) confermano la loro affidabilità per lo screening rapido di campioni di frumento a concentrazioni prossime alle STC (*screening target concentrations*) selezionate. I numerosi vantaggi in termini di costi contenuti, portabilità, possibilità di automazione, impiego di

personale non qualificato, rende gli immunosaggi FP sviluppati adatti allo screening rapido di tali micotossine e delle loro forme modificate in frumento.

Questo lavoro è stato svolto nell'ambito del progetto MYCOKEY "Integrated and innovative key actions for mycotoxin management in the food and feed chain" (H2020 - Grant Agreement No 678781).

P11 ESTRAZIONE UNICA IN ACQUA, PER LA QUANTIFICAZIONE DI NOVE MICOTOSSINE USANDO LA TECNOLOGIA SYMMETRIC LATERAL FLOW

Drakouli S., Skliris A., Voulgari D.L., Angeli E., Ntantasios A.N., Papageorgiou G., Athanasiou S.D.

Dipartimento di Ricerca e Sviluppo, Prognosis Biotech S.A., Larissa, Grecia

Le Aflatossine (AF) (AFB₁, AFB₂, AFG₁ e AFG₂) sono metaboliti tossici di massimo interesse per l'industria alimentare, principalmente prodotte dai funghi *Aspergillus flavus*. Le Ochratossine (OT) (OTA, OTB e OTC) sono anche un gruppo di micotossine prodotte da alcune specie di *Aspergillus A*. L'AFB₁ e l'OTA sono le forme più tossiche e le più frequentemente rilevate. Deossinivalenolo (DON), Zearalenone (ZON), Fumonisine (FB) (la FB₁ è la forma più tossica) e T-2 / HT-2 tossine sono membri delle micotossine trichotecene prodotte da funghi del genere *Fusarium*. Queste micotossine possono esercitare effetti nocivi quali immunosoppressivi, mutageni, teratogeni o cancerogeni e sono considerate tossiche per gli esseri umani e gli animali. La maggior parte delle agenzie governative di controllo in tutto il mondo hanno regolamenti in merito alla quantità di micotossine ammissibili nei prodotti alimentari umani ed animali. La determinazione accurata e rapida della presenza di ogni micotossina nelle materie prime è di fondamentale importanza. Lo scopo del presente studio è stato quello di valutare i livelli di recupero dell'Aflatossina totale (AFB₁, AFB₂, AFG₁ e AFG₂), l'Ochratossina A, il Deossinivalenolo, il Zearalenone, le Fumonisine e le tossine T-2 / HT-2 nei campioni di mais e alimentazione animale, usando lo stesso estratto dopo una estrazione singola con una soluzione ecologica mediante la tecnologia immunocromatografica *Lateral Flow*. I livelli di ciascuna famiglia di micotossine sono stati determinati mediante la tecnologia *Symmetric Lateral Flow*. L'Aflatossina totale, l'Ochratossina A, il Deossinivalenolo, il Zearalenone, le Fumonisine e le tossine T-2 e HT-2, sono state analizzate con il *Symmetric Total Green 0-30/S3448/S3448004*, *Symmetric Ochratoxin Green/S6048/S6048004*, *Symmetric DON Green/S4048/S4048008*, *Symmetric ZON Green/S5048/S5048004*, *Symmetric Fumonisin Green/S7048/S7048005* e *Symmetric T-2/HT-2 Green/S8048/S8048004* rispettivamente. Tutti i metodi usano lo stesso estratto dopo una estrazione singola con una soluzione ecologica. La tecnologia *Symmetric Lateral Flow* si basa sul principio del dosaggio immunocromatografico. L'interno dei pozzetti di ogni *strip* contiene anticorpi specifici diretti contro la micotossina coniugati a particelle di oro colloidale. L'estratto diluito viene aggiunto al pozzetto. Una *strip* con due bande di cattura, la banda test e la banda di controllo, viene inserita nel pozzetto. Il reagente viene risospeso e il campione così preparato, comincia a risalire verticalmente sulla *strip*, attraversando le due bande. Dopo il flusso, utilizzando il software S-Flow, le micotossine sono state accuratamente quantificate. Diversi materiali di riferimento sono stati utilizzati, includendo tutte le micotossine. Dopo la singola estrazione con la soluzione ecologica, tutte le micotossine sono state analizzate mediante la *Symmetric Lateral Flow*. Utilizzando il software S-Flow, le micotossine sono

state accuratamente quantificate. È stato dimostrato che i livelli di recupero sono eccellenti. Questi risultati concordano con i risultati ottenuti nei Ring Test FAPAS per il mais e l'alimentazione animale. La compatibilità della singola estrazione usando una soluzione ecologica con la tecnologia *Symmetric Lateral Flow* e software S-Flow è uno strumento prezioso per la quantificazione di tutte le micotossine.

P12 RESIDUAL ANALYSIS OF MYCOTOXINS AND ALKALOIDS IN FOOD AND FEED: WHAT SHOULD BE MONITORED?

De Dominicis E. (a), Casarotto M. (b), Martire C. (b), Finotello C. (b), Carron S. (b), Saner S. (a), Formaggio F. (c)

(a) R&D Department Mérieux NutriSciences, Resana, Treviso

(b) Food Contaminant Department Mérieux NutriSciences, Resana, Treviso

(c) Dipartimento di Chimica, Università degli Studi, Padova

Mycotoxins are toxic secondary metabolites produced by organisms of the fungi kingdom. They can be present in both food and feed and can cause diseases or death in humans and animals. Alkaloids are basic nitrogen bioactive molecules (more than 12,000; very heterogeneous with different chemical nature and properties) mainly produced by plants, as a natural defense against insects, animals, etc. From the toxicological point of view, a lot of mycotoxins and alkaloids have been studied and corresponding legal limits have been established and then revised over time in both food and feed.

In this project we developed Multi LC-MS/MS Methods to analyze residues of the most important Mycotoxins and Alkaloids according to existing legislation:

- Mycotoxins;
- Tropane Alkaloids (TAs);
- Pyrrolizidine Alkaloids (PAs);
- Ergot Alkaloids (EAs);
- Alternaria Toxins;
- Glycoalkaloids.

In particular, baby food and infant formula matrices are recently fully validated and we will provide a vision regarding the analytical approach used and the results obtained.

Through Non-Targeted Screening Approaches based on HRMS and MS/HRMS, we can detect and identify metabolites and the relevant degradation products, whose toxicological effects on human health are still unknown and whose limits might be restricted in the future.

P13 SVILUPPO E VALIDAZIONE DI METODI RAPIDI DI SCREENING PER LA DETERMINAZIONE DI MICOTOSSINE NEI MANGIMI E NEGLI ALIMENTI

Lucchetti D., Delfino D., Russo K., Triolone D., Di Giustino P., Mancuso M., Neri B.
Direzione Operativa Chimica, Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana, Roma

Un metodo di screening, rapido e sensibile, è stato sviluppato, validato secondo la direttiva 2002/657/CE e accreditato secondo la norma ISO/IEC 17025 per la determinazione nei mangimi di nove micotossine (Aflatossina B₁, Citrinina, Fumonisina B₁ e B₂, Ocratossina A, Tossina T-2, Tossina HT-2, Deossinivalenolo e Zearalenone).

Il metodo prevede un'estrazione tramite una soluzione di Acetonitrile:Acqua:Acido Acetico (79:20:1) e l'iniezione diretta in spettrometria di massa (LC-MS/MS). In accordo con i rispettivi limiti di legge, sono stati stabiliti i seguenti valori di *cut-off*: 0,400 mg/kg per il DON, 0,070 mg/kg per lo Zearalenone, 0,005 mg/kg per l'Ocratossina A, 0,0025 mg/kg per Aflatossina B₁, 0,800 mg/kg per la Citrinina, 0,050 mg/kg per HT2 e T2 e 1,250 mg/kg per le Fumonisina B₁ e B₂, tutti relativi ad un mangime con un tasso di umidità del 12%. Per tutti gli analiti il S/N era almeno superiore a 3.

Il metodo sviluppato si è rivelato particolarmente utile per le analisi di routine in quanto ha consentito la riduzione dei costi e dei tempi di analisi: solo il 16% dei campioni, infatti, ha richiesto un'analisi di conferma. La contaminazione da micotossine più frequente riscontrata su tutti i campioni analizzati (600 all'anno) è dovuta alla presenza di Fumonisina B₁ e Fumonisina B₂ (14,5%).

In seguito ai promettenti risultati ottenuti per i mangimi, è stato sviluppato un metodo di screening per la determinazione di 12 micotossine nei cereali destinati al consumo umano. In questo caso, dopo un'estrazione molto rapida, i campioni sono stati eluiti utilizzando le colonnine in fase solida Puritox Total Myco-MS® (tasso di falsi positivi < 5 % a livello di interesse).

Sessione Poster
Martedì 11 giugno 2019

P14 TOSSINE DELL'ALTERNARIA SPP. NEL FRUMENTO: EFFETTI DELLA DIGESTIONE ANAEROBICA E BMP

Aureli G. (a), Iori A. (a), Fabbri C. (b), Gallucci F. (a), Soldano M. (b)

(a) CREA Centro di Ricerca Ingegneria e Trasformazioni Agroalimentari, Roma

(b) Centro Ricerche Produzioni Animali, CRPA, Reggio Emilia

La valorizzazione energetica di substrati contaminati da micotossine attraverso la digestione anaerobica rappresenta un mezzo efficace per la gestione sostenibile di prodotti cerealicoli non utilizzabili per l'alimentazione umana o animale che si inquadra nell'ambito di un sistema di "economia circolare" vantaggioso per le aziende agricole.

Lo scopo del lavoro è stato quello di approfondire le conoscenze sull'efficacia del processo di digestione anaerobica su prodotti di prima trasformazione (sfarinati integrali, frazioni cruscali, semole e farine) ottenuti da granella di frumento contaminata, sia con infezione naturale sia mediante inoculazioni artificiali, da tossine prodotte dall'*Alternaria* spp. A tal fine sono state considerate le seguenti micotossine: Alternariolo (AOH), Alternariolo Monometil-Etere (AME) e acido tenuazonico (TeA). Il processo di digestione anaerobica è stato condotto *in batch* con strumentazione di laboratorio per la misura della produzione specifica di metano (test del Potenziale Biochimico di Metanazione o BMP). Le prove sono state condotte in condizioni di mesofilia (38°C) per la durata di 27 giorni (UNI EN ISO 11734). Le analisi sui campioni sono state effettuate sia con metodo immunoenzimatico che in cromatografia liquida (LC-MS). I risultati hanno evidenziato l'efficienza del processo di digestione anaerobica nell'abbattimento dei livelli di concentrazione delle micotossine nel digestato del 71% dei campioni che, relativamente alla somma delle tossine AOH, AME e TeA, è stato compreso nell'intervallo 27,7%-100% rispetto alla condizione iniziale (pre-digestione). Di particolare interesse è stato il risultato ottenuto riguardo all'acido tenuazonico (TeA) per il quale, indipendentemente dai livelli di concentrazione in pre-digestione e del tipo di substrato di frumento impiegato, l'abbattimento registrato è stato pari al 100%. Il BMP, misurato nei test di digestione anaerobica dei campioni analizzati (n=24) è risultato compreso nell'intervallo 280,8-383,4 [Nm³ CH₄/t SV], con una media di 338,6±22,3 [Nm³ CH₄/t SV]. Il dato di BMP non è risultato correlato in modo significativo (p>0,05) né con la somma dei valori di contaminazione delle micotossine esaminate né con il tipo di substrato di frumento sottoposto al processo di digestione. I risultati ottenuti hanno costituito, nel loro insieme, un approfondimento delle conoscenze sulle possibilità di impiego di matrici cerealicole contaminate da micotossine come substrati sfruttabili dal punto di vista energetico e forse valutabili per un possibile ulteriore impiego. Il lavoro è stato svolto nell'ambito del progetto AGROENER (Energia dall'agricoltura: innovazioni sostenibili per la bioeconomia), finanziamento MiPAAFT D.D. n. 26329 dell'1/04/2016 - <http://agroener.crea.gov.it/>

P15 SVILUPPO E VALUTAZIONE DI EFFICACIA DI UN NUOVO BINDER MULTI-MICOTOSSINA

Greco D. (a), D'Ascanio V. (a), Logrieco A.F. (a), Menicagli E. (b), Scala R. (c), Maquoud F. (c), Tricarico D. (c), Avantaggiato G. (a)

(a) *Istituto di Scienze delle Produzioni Alimentari, Consiglio Nazionale delle Ricerche, Bari*

(b) *Laviosa Chimica Mineraria SpA, Livorno*

(c) *Dipartimento di Farmacia-Scienze del Farmaco, Università degli studi, Bari*

La bentonite, un minerale autorizzato in ambito europeo quale additivo per mangimi per la riduzione della contaminazione da micotossine (Reg. UE N. 1060/2013), mostra un'attività selettiva per le sole Aflatossine. Nell'ambito del progetto europeo MycoKey (convenzione n. 678781), è stato sviluppato un nuovo materiale a base di bentonite (bio-organoclay) capace di sequestrare simultaneamente micotossine strutturalmente diverse. Nello specifico, una bentonite contenente smectite sodica (categoria *Im558*) quale principale minerale è stata modificata mediante un processo di attivazione acida seguito da funzionalizzazione con un modificante organico non tossico. Il processo è stato ottimizzato a livello di laboratorio individuando le condizioni ottimali (origine geologica e proprietà chimico-fisiche delle smectiti, tipo e concentrazione di agenti chimici, temperatura e tempo di contatto) per produrre un binder multi-micotossina. In test di adsorbimento *in vitro*, il nuovo materiale è risultato in grado di sequestrare più del 95% di AFB₁, FB₁, OTA e ZEA, in un ampio *range* di valori di pH (3-9) e con elevata capacità e affinità. In prove di efficacia *in vivo*, con ratti, il bio-organoclay somministrato ad una concentrazione dello 0.5% p/p rispetto al mangime, ha confermato la sua capacità ad adsorbire le micotossine riducendone assorbimento intestinale ed escrezione urinaria. Come specificato dalle linee guida dell'EFSA, per la verifica *in vivo* di efficacia del binder è stato utilizzato l'approccio *biomarker*. In particolare, AFM₁, ZEA e metaboliti (α -ZOL, β -ZOL e β -ZAL), OTA e FB₁ sono stati analizzati nelle urine degli animali esposti mediante metodi UPLC validati. Le micotossine di interesse sono state somministrare singolarmente agli animali del gruppo controllo (solo micotossina) e trattato (micotossina+binder), in singola dose, mediante sondino gastrico. Dopo somministrazione delle tossine, gli animali sono stati alloggiati in gabbie metaboliche per la raccolta delle urine delle 4-72h per AFB₁, ZEA e FB₁; 4-320h per OTA. I dati di escrezione urinaria delle micotossine e/o metaboliti, normalizzati per il contenuto di creatinina, hanno confermato l'efficacia dell'additivo a ridurre significativamente ($p < 0,05$) l'assorbimento di AFM₁, ZEA, FB₁ e OTA in ratti. Non sono stati registrati effetti tossici sugli animali. Il bio-organoclay può ritenersi sicuro in quanto preparato utilizzando reagenti chimici presenti nel registro dell'UE degli additivi per mangimi (Regolamento (CE) n. 8731/2003).

Ringraziamenti - Questa ricerca è stata finanziata dal programma di ricerca e innovazione Horizon2020 dell'Unione europea nell'ambito dell'accordo di sovvenzione n. 78781 (MycoKey).

P16 FUNGHI MICOTOSSIGENI E MICOTOSSINE NEL RISO ITALIANO IN CAMPO E DURANTE LO STOCCAGGIO

Bertuzzi T. (a), Rastelli S. (a), Mulazzi A. (a), Romani M. (b), Giorni P. (c)
(a) *Dipartimento di Scienze Animali, della Nutrizione e degli Alimenti, Università Cattolica del Sacro Cuore, Piacenza*
(b) *Ente Nazionale Risi, Centro di Ricerca, Castello d'Agogna, Pavia*
(c) *Dipartimento delle Produzioni Vegetali Sostenibili, Università Cattolica del Sacro Cuore, Piacenza*

La contaminazione da funghi micotossigeni e relative micotossine è stata monitorata in risone durante la crescita in campo e, successivamente, per un periodo di stoccaggio di 5 mesi. Lo studio ha coinvolto 3 campi sperimentali, 9 varietà di riso e 3 densità di semina differenti mentre, per lo stoccaggio, sono state considerate diverse condizioni di temperatura (temperatura ambiente, media refrigerata (11-15°C) e alta refrigerata (1-2°C)). Le micotossine Sterigmatocistina (STC), Aflatossina B₁ (AFB₁), Deossinivalenolo (DON) e Ocratossina A (OTA) sono state determinate usando le opportune tecniche cromatografiche (LC-MS/MS, HPLC-FLD, GC-MS).

In campo, i Generi fungini micotossigeni più abbondanti sono risultati *Fusarium spp.* e *Aspergillus spp.*; in particolare, *A. flavus* e *A. niger* sono stati rilevati raramente, mentre *A. versicolor* è risultato sempre presente anche se a basse concentrazioni. Il Genere *Penicillium spp.* è stato isolato sporadicamente ed è risultato non rilevante nella contaminazione fungina dei risoni. Per quanto riguarda le micotossine, STC è stata sempre rilevata tranne che in fioritura, mentre AFB₁, DON e OTA solo raramente e a bassi livelli. La contaminazione sia fungina che di micotossine è generalmente aumentata dal periodo di post-fioritura fino alla raccolta. In alcuni campioni che sono stati lasciati in campo per ulteriori 15 giorni dopo la completa maturazione, la contaminazione è rimasta costante o, talvolta, diminuita. Differenze statisticamente significative sono state riscontrate tra le varietà ($P \leq 0,01$) per la contaminazione fungina e quella da STC mentre la densità di semina non è risultata essere rilevante.

Durante lo stoccaggio, la presenza di funghi micotossigeni è risultata costante nel tempo e simile alla composizione riscontrata alla raccolta in campo. Per quanto riguarda le micotossine, invece, un aumento della contaminazione da STC è stato riscontrato nello stoccaggio a temperatura ambiente, mentre per le altre micotossine non sono state rilevate variazioni significative. Risulta quindi dimostrato come la contaminazione da STC, una micotossina emergente non ancora regolamentata dalla Comunità Europea, possa essere rilevante nel riso.

Lavoro finanziato dalla Regione Lombardia PSR 2014-20, Progetto BabyRice.

P17 RELAZIONE TRA USO DI PESTICIDI IN AGRICOLTURA E CONTAMINAZIONE DA MICOTOSSINE EMERGENTI

Bibi R., Paoloni A., Verdini E., Sdogati S., Pecorelli I.
Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche, Perugia

Le Tossine di *Alternaria* (TA) e gli Alcaloidi dell'Ergot (AE) sono due gruppi di micotossine non ancora inclusi nel Regolamento (UE) 1881/2006, che stabilisce i livelli massimi, per alcuni contaminanti nei prodotti alimentari. Nel corso degli anni 2017/2018 circa 54 campioni di pomodoro e prodotti a base di pomodoro, cereali e semi di girasole, sono stati raccolti in tre regioni italiane (Umbria, Marche e Basilicata) e analizzati in LC-MS/MS per determinare TA ed AE. I risultati sono stati inviati all'EFSA per la valutazione del rischio. Per valutare la copresenza di pesticidi e composti antifungini, sono stati applicati 4 diversi metodi analitici (1 metodo MRM GC-MS/MS e LC-MS/MS + 3 SRM) sugli stessi campioni, per determinare la presenza di circa 250 pesticidi. Infine altre micotossine, comprese nella legislazione dell'UE, sono state determinate per avere un pannello completo di contaminazione da funghi. La contaminazione dei campioni da TA è risultata molto alta (80%), mentre i cereali non sembrano essere molto contaminati da AE. In circa il 70% dei campioni di pomodori e derivati è stato rilevato il Propamocarb (un fungicida sistemico), ma la presenza di questa molecola non sembra proteggere questi alimenti dalla contaminazione da TA. D'altro canto, i Ditiocarbammati, un gruppo di fungicidi da contatto, non sono stati rilevati in nessun campione, anche se il loro uso sembra essere efficace nel controllo di questa malattia. Negli stessi campioni sono state rilevate anche diverse molecole, analizzabili, con metodo QuPpe (principalmente Acido Fosfonico che è un metabolita incluso nella definizione MRL del Fosetyl-Al). Gli AE sono stati rilevati in una percentuale significativamente inferiore di campioni rispetto alle TA ed è stata anche osservata una minore incidenza di residui di pesticidi. Nei campioni analizzati, l'indicazione del trattamento da parte di molti diversi fungicidi non sembra essere efficace per il controllo delle muffe di specie *Alternaria*, specialmente nel pomodoro e nei semi di girasole. Per questo motivo è necessario tenere conto dell'effetto combinato che i residui di pesticidi e di micotossine potrebbe influire, negativamente, sulla salubrità degli alimenti e dei mangimi, con un conseguente impatto sulla salute pubblica.

Campioni di cereali, campionati sia per le TA che per la determinazione degli AE, dimostrano, secondo la nostra precedente esperienza, una minore incidenza di residui di pesticidi e micotossine e di conseguenza non rappresentano una preoccupazione significativa per la salute pubblica.

Il sostegno finanziario per questo lavoro è stato fornito dal Ministero della Salute, Dipartimento di Salute Pubblica Veterinaria e Sicurezza Alimentare, Roma.

P18 EFFETTO DI DIETE CONTAMINATE DA *FUSARIUM*-TOSSINE SULLE PROPRIETÀ DI COAGULAZIONE DEL LATTE IN LATTIFERE

Gallo A. (a), Bani P. (a), Bertuzzi T. (a), Doupovec B. (b), Faas J. (b), Schatzmayr D. (b), Trevisi E. (a)

(a) *Department of Animal Sciences, Food and Nutrition, Università Cattolica del Sacro Cuore, Piacenza*

(b) *BIOMIN Research Center, Tulln, Austria*

Le micotossine prodotte da *Fusarium* spp., principalmente Deossinivalenolo (DON) e Fumonisine (FUM), spesso contaminano le diete destinate alle lattifere e possono peggiorare lo stato sanitario degli animali, influenzando negativamente anche la quantità, composizione e attitudine casearia del latte. Lo scopo del lavoro è stato quello di studiare l'effetto della presenza di DON e FUM nelle diete sulle performance produttive e la qualità del latte prodotto, inclusa l'attitudine casearia. Dodici vacche in lattazione sono state impiegate in un disegno sperimentale a quadrato latino, con 3 periodi x 3 trattamenti. Gli animali hanno ricevuto una dieta controllo, caratterizzata da basse concentrazioni di DON e FUM (CTR, 0,4 mg/kg di DON e 0,1 mg/kg di FUM; rispettivamente); una dieta contaminata da livelli più alti di queste micotossine (MTX, 1,0 mg/kg di DON e 1,1 mg/kg di FUM); e una dieta MTX nella quale era aggiunto un prodotto deattivante le micotossine, in ragione di 35 g/capo/giorno (MTX+MDP). I livelli di contaminazione da DON e FUM di tutte le diete formulate risultavano più basse rispetto ai valori massimi stabiliti dalla Comunità Europea per queste micotossine. Ogni periodo sperimentale consisteva di 3 settimane di esposizione, nel corso del quale erano somministrate alternativamente una delle 3 diete. Ad ogni periodo seguivano due settimane in cui tutti gli animali ricevevano la stessa dieta senza micotossine. Campioni individuali di latte sono stati raccolti da tutti gli animali settimanalmente per essere caratterizzati per la composizione chimica, le proprietà reologiche (acidità titolabile, contenuto in caseine e attitudine alla caseificazione) ed il contenuto in cellule somatiche. I dati sono stati analizzati come misure ripetute con la procedura MIXED del SAS, con un modello che prevedeva effetti fissi ed effetti *random*. Le medie sono state considerate diverse per un $P \leq 0,05$. Il tempo di coagulazione (r) è stato simile ($P=0,480$) fra trattamenti (18,5 min per CTR, 19,5 min per MTX e 18,1 min per MTX+MDP). Invece, la consistenza del coagulo (A30) è stata influenzata dal trattamento ($P<0,05$), essendo 30,4 mm nel CTR rispetto a 25,1 mm per MTX, ma il deattivante (MTC+MDP) ha attenuato l'effetto negativo delle micotossine (32,4 mm). Anche il tempo di rassodamento (K20) è risultato diverso fra diete ($P<0,05$), essendo 8,1 min per CTR e 13,0 min per MTX, ed ancora migliorato dal deattivante (9,7 min per MTC+MDP). La composizione del latte e la conta delle cellule somatiche non è stata diversa fra trattamenti. Pertanto le lattifere che ingeriscono diete contaminate da *Fusarium*-tossine peggiorano le prerogative casearie del latte, anche a livelli di contaminazione non pericolosi e normalmente riscontrati negli allevamenti commerciali. L'impiego di prodotti in grado di deattivare queste micotossine può attenuare o evitare questi effetti negativi.

P19 INDAGINE PRELIMINARE DELLA PRESENZA DI PATOGENI FUNGINI E MICOTOSSINE IN VARIETÀ DI CANAPA DA SEME

Lanzanova C., Locatelli S., Mascheroni S., Pecchioni N.
Centro di Ricerca Cerealicoltura e Colture Industriali, Consiglio per la Ricerca in Agricoltura e l'Analisi dell'Economia Agraria, Bergamo

Negli ultimi anni la coltivazione di canapa (*Cannabis sativa L.*) in Italia sta suscitando un certo interesse tra gli agricoltori per le potenziali opportunità di mercato. Si stima infatti che negli ultimi 5 anni la coltivazione in Italia sia passata dai 400 ha nel 2013 ai quasi 4000 ha per il 2018.

In Italia, con la legge attualmente in vigore, la produzione e commercializzazione dei prodotti a base di canapa sono possibili solo utilizzando varietà con un tenore di THC, cannabinoide psicotropo, inferiore allo 0,2% del peso secco delle infiorescenze mature. Grazie alla versatilità della coltura vi sono opportunità di utilizzo diversificato nel campo dell'alimentazione (*gluten free*), cosmetica, energetica ed industriale.

Nella filiera agroalimentare, la canapa può essere utilizzata sotto forma di seme integrale e/o decorticato e dei loro derivati, la farina e l'olio. I principali prodotti derivano principalmente dal seme, che è privo dei tricomi ghiandolari e quindi non produce e accumula cannabinoidi. Tuttavia l'abbondanza di cannabinoidi nelle infiorescenze e nelle brattee fiorali comporta che lotti di seme di canapa siano spesso contaminati da residui di questi composti terpenofenolici.

L'ingresso massiccio di questi prodotti nel nostro Paese sta ponendo pertanto il problema di adeguare il panorama varietale a questi nuovi usi, e di fornire al legislatore strumenti analitici precisi in grado di quantificare non soltanto il tasso di cannabinoidi nelle piante e nei derivati del seme, ma di valutarne anche la qualità igienico sanitaria. Numerosi patogeni fungini possono contaminare il seme compromettendone la produzione e la qualità.

Data la possibile criticità di impatto sulla salute pubblica, all'interno del progetto MAIDET "Metodi analitici innovativi per la determinazione del THC in matrici vegetali" si è posta l'attenzione sulla valutazione fitopatologica della materia prima da cui questi prodotti sono ottenuti. È stata avviata un'indagine preliminare sulla caratterizzazione della contaminazione fungina delle maggiori varietà di canapa da seme fra le più coltivate in Italia a basso contenuto di THC e analisi del relativo contenuto di micotossine mediante saggio ELISA.

La ricerca si è svolta nell'ambito del progetto di ricerca: MAIDET "Metodi analitici innovativi per la determinazione del THC in matrici vegetali" (2018 - 2020), finanziato da MiPAAFT (D.D. N. 34176/7303 del 29/12/2017).

P20 RIDUZIONE DELLA CONTAMINAZIONE DA MICOTOSSINE NEL MAIS MEDIANTE PULIZIA DELLA GRANELLA SU SCALA INDUSTRIALE

Pascale M. (a), Slettengren K. (b), Vega A. (b), Lippolis V. (a), Cervellieri S. (a), De Girolamo A. (a), Lattanzio V.M.T. (a), Ciasca B. (a), Logrieco A.F. (a)

(a) *Istituto di Scienze delle Produzioni Alimentari, Consiglio Nazionale delle Ricerche, Bari*

(b) *Bühler AG, Uzwil, Svizzera*

Il mais, primo cereale nel mondo per produzione, risulta essere molto suscettibile alla contaminazione da micotossine i cui livelli dipendono fortemente dall'annata agraria. È noto che cariossidi di mais ammuffite, scolorite, danneggiate o rotte, così come le polveri all'interno di una partita contaminata, contengono alti livelli di micotossine. Una combinazione di tecnologie in grado di rimuovere efficacemente le frazioni contaminate può quindi ridurre significativamente la contaminazione nel prodotto finale.

Diversi lotti di mais (3-25 tonnellate) contaminato da Aflatossine e alcune tossine di *Fusarium* (Deossinivalenolo, Fumonisine e Zearalenone) sono stati processati in tre diversi impianti industriali (in Italia, Germania e Spagna) allo scopo di valutare l'effetto della pulizia delle cariossidi sulla riduzione dei livelli di micotossine. Le tecniche investigate includevano i) separazione meccanica delle cariossidi sulla base delle dimensioni allo scopo di eliminare le frazioni grosse, piccole e gli spezzati; ii) rimozione delle polveri/particelle sottili attraverso un sistema di aspirazione; iii) separazione delle cariossidi basata sulla loro densità e iv) selezione ottica delle cariossidi difettate per forma e colore. Il campionamento dinamico è stato eseguito lungo l'intera linea di processo in accordo al Regolamento (CE) n. 401/2006 tenendo conto del peso del lotto e della velocità di scarico (tonnellate/ora). È stato raccolto un numero di campioni incrementali da 3 a 100 (circa 100-300 g ciascuno), a seconda delle frazioni campionate. Le analisi delle micotossine sono state eseguite con metodi HPLC previa purificazione degli estratti mediante colonnine ad immunoaffinità.

È stata osservata una riduzione significativa del contenuto di micotossine nel prodotto pulito con percentuali fino al 90% per le Aflatossine, fino all'88% per lo Zearalenone, fino all'82% per il Deossinivalenolo e fino al 69% per le Fumonisine, rispetto al prodotto iniziale non pulito. Tutte le frazioni di scarto di pulitura, ed in particolare le polveri e le frazioni di scarto prodotte dall'aspiratore e dalla selezionatrice ottica, contenevano elevati livelli di micotossine. Questo studio dimostra che una linea di pulizia che combina tecnologie di selezione sia meccaniche che ottiche è una soluzione affidabile per ridurre sensibilmente la contaminazione da micotossine nel mais.

Questo lavoro è stato svolto nell'ambito del progetto MYCOKEY (H2020-Grant Agreement No 678781).

P21 RIPARTIZIONE DELLE MICOTOSSINE NORMATE ED EMERGENTI DURANTE LA MOLITURA DEL MAIS

Scarpino V. (a), Vanara F. (a), Sulyok M. (b), Reyneri A. (a), Blandino M. (a)
(a) *Dipartimento di Scienze Agrarie, Forestali e Alimentari, Università degli Studi, Grugliasco, Torino*
(b) *Center for Analytical Chemistry, Department of Agrobiotechnology, IFA, Tulln, Austria*

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. La sperimentazione è stata condotta presso un molino industriale processando 3 diversi lotti (2012-2014) con due sistemi di degerminazione. Campionando secondo il Regolamento (EC) n. 401/2006 sono stati prelevati la granella prima e dopo la pulitura, le farine (bramata, fioretto e fumetto) dal processo di degerminazione a secco e gli *hominy grits* (grossi, medi e fini) dalla degerminazione a umido e i sottoprodotti quali il germe, e la farinetta ad uso zootecnico. I campioni sono stati analizzati con un metodo LC-MS/MS multi-micotossina ed in tutti è stata rilevata la co-presenza delle micotossine normate e di una ventina di metaboliti fungini emergenti, tra cui: il 3- e il 15-acetildeossinivalenolo, l'aurofusarina, la beauvericina, la bikaverina, il butenolide, il Deossinivalenolo-3-glucoside, la Culmorina (CULM) e le sue forme idrossilate, le Fumonisine A, la Fusaproliferina (FUS), la Fusarina C, la Moniliformina, il Nivalenolo (NIV), le forme derivate dello ZEA (α - e β -Zearalenolo, Zearalenone-4-solfato). 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 per tutti i metaboliti rilevati. I prodotti destinati al consumo umano sono sempre risultati meno contaminati dei sottoprodotti. 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. La sperimentazione evidenzia che la distribuzione nelle frazioni di molitura delle micotossine emergenti è simile a quella delle micotossine già normate. Pertanto, occorre prestare attenzione ai livelli di co-contaminazione nei prodotti con granulometria più fine e nei sottoprodotti.

P22 STUDIO DEL COMPORTAMENTO DEL MAIS CONTAMINATO DA AFLATOSSINE IN DIGESTIONE ANAEROBICA

Soldano M. (a), Piccinini S. (a), Gallucci F. (b), Fabbri C. (a)

(a) *Centro Ricerche Produzioni Animali, Reggio Emilia*

(b) *Centro di Ricerca Ingegneria e Trasformazioni Agroalimentari, Monterotondo, Roma*

Le note problematiche igienico-sanitarie dovute alle micotossine, stanno contribuendo alla crisi del comparto maidicolo nazionale, colpendo sempre più spesso questa produzione, coinvolgendo anche alcune eccellenze agroalimentari del nostro Paese. A seguito di questa emergenza, sono state redatte dalle regioni interessate e dal Ministero della Salute, delle linee guida per la gestione del rischio Aflatossine che hanno previsto l'utilizzo del prodotto anche ai fini energetici. Il granturco con tenore di Aflatossina superiore al limite previsto dalla normativa, può essere destinato ad usi alternativi quali ad esempio la produzione di biogas. La sperimentazione ha avuto come obiettivo la verifica di eventuali effetti inibenti delle Aflatossine sulla corretta funzionalità del processo di digestione anaerobica, delle conseguenze sul processo biologico e sulla loro eventuale degradazione/inattivazione, verificandone il livello di riduzione rispetto alla concentrazione iniziale. Sono stati svolti in laboratorio test di digestione anaerobica con reattori pilota in continuo, del volume di 23 litri ciascuno. Tale strumentazione permette di simulare la gestione di un impianto di biogas in scala reale, effettuando carichi giornalieri di substrato, scarico del digestato ed il monitoraggio in continuo del processo biologico, quantificando anche il biometano prodotto. La AFB₁ è la micotossina sulla quale è stato focalizzato il maggiore interesse in questo studio, essendo quantitativamente la più presente e ad elevata tossicità. Sono state utilizzate due partite di granelle di mais "non conformi" all'alimentazione umana ed animale, naturalmente contaminate da alte concentrazioni di AFB₁, pari a 247 µg/kg e 942 µg/kg. Come tesi di confronto, è stata utilizzata granella con contenuto trascurabile di Aflatossina (21 µg/kg). I risultati ottenuti evidenziano nessun effetto di inibizione del processo biologico e la produzione in biogas misurata dalle tesi con farine con alta contaminazione non è risultata significativamente differente dal risultato ottenuto dalla tesi con contaminazione trascurabile (controllo). Non sono stati osservati effetti di accumulo come conseguenza del carico giornaliero di micotossine e la concentrazione di AFB₁ misurata nei digestati estratti è risultata inferiore a quella attesa. Nelle condizioni di prova (farina pari al 10% in peso t.q. della dieta giornaliera), l'abbattimento misurato è risultato per tutte le tesi circa il 90% della quantità caricata.

Il lavoro è stato svolto nell'ambito del progetto AGROENER (Energia dall'agricoltura: innovazioni sostenibili per la bioeconomia), finanziamento MiPAAFT D.D. n. 26329 dell'1/04/2016 e del progetto MICOcontrollo "Micotossine dei cereali: strategie di controllo e integrazione di filiera per uso energetico", PSR 2014-2020 Reg. Emilia-Romagna Misura 16.1.01.

INDICE DEGLI AUTORI

Alvito P.; 35
Angeli E.; 54
Athanasίου S.D.; 43; 54
Aureli G.; 61
Avantaggiato G.; 62
Baccarini G.; 19
Badra K.; 43
Baert K.; 29; 33
Bani P.; 65
Barea Toscan M.C.; 5; 31; 32
Battilani P.; 16; 37
Bernardi M.; 39
Berthiller F.; 46
Bertuzzi T.; 11; 16; 63; 65
Biancardi A.; 44; 45
Bibi R.; 7; 25; 64
Binaglia M.; 29; 33
Blandino M.; 18; 28; 68
Branciaro R.; 25
Brera C.; 4; 5; 6; 31; 32; 35; 37; 38; 50
Buesch C.; 46
Buiarelli F.; 6
Camardo Leggieri M.; 16
Campbell K.; 37
Cappè S.; 24
Caprai E.; 20
Caputo D.; 9
Carron S.; 56
Casarotto M.; 56
Catasta G.; 34
Catucci L.; 49
Cavalli L.; 26
Cavandoli E.; 46
Cervellieri S.; 49; 67
Ciasca B.; 52; 67
Colangelo A.M.; 47
Comendador F.J.; 34
Cortese M.; 49
Costantini F.; 9
Crisci A.; 37
Curiale A.; 50
D'Addezio L.; 34
D'Ascanio V.; 62
D'Agnello P.; 50
Dall'Asta C.; 37
de Cesare G.; 9
De Cesare L.; 48
De Dominicis E.; 56
De Girolamo A.; 49; 52; 67
De Pace R.; 50
De Saeger S.; 52
De Santis B.; 4; 5; 6; 31; 32; 35; 37; 38
Debegnach F.; 4; 5; 6; 31; 32; 35; 50
Delfino D.; 57
Della Fiora L.; 37
Di Giustino P.; 57
Dorne J.L.; 37
Doupovec B.; 65
Drakouli S.; 54
Faas J.; 65
Fabbri C.; 61; 69
Fedrizzi G.; 20
Feraldi A.; 32
Ferrari M.; 34
Ferri F.; 35
Ferri G.; 13
Finocchietti M.; 32
Finotello C.; 56
Fontana M.; 22
Formaggio F.; 56
Franchino C.; 50
Francioni C.; 48
Gallo A.; 65
Gallucci F.; 61; 69
Giangolini G.; 15
Giorni P.; 16; 63
Gkrillas A.; 37
Gonçalves A.; 37
Greco D.; 62
Gregori E.; 4; 5; 31; 32; 38
Guarducci N.; 7; 51
Iori A.; 61
Krska R.; 46
Lambertini F.; 46

Lanzanova C.; 27; 66
 Lattanzio V.M.T.; 7; 51; 52; 67
 Le Donne C.; 34
 Li P.; 52
 Lippolis V.; 49; 52; 67
 Locatelli S.; 27; 66
 Logrieco A.F.; 7; 23; 49; 52; 62; 67
 Longobardi F.; 49
 Lovecchio N.; 9
 Lucchetti D.; 57
 Luciani G.P.; 48
 Macri A.; 39
 Mancini E.; 52
 Mancuso M.; 57
 Manetti C.; 9
 Manfredini R.; 21
 Maquoud F.; 62
 Maragos C.M.; 52
 Martins C.; 35
 Martire C.; 56
 Martone D.; 34
 Mascheroni S.; 27; 66
 Maurizi D.; 14
 Mazzilli G.; 6; 35
 McCormick S.; 52
 Menicagli E.; 62
 Menicagli M.; 10
 Minkoumba Sonfack G.; 20
 Mistura L.; 34
 Monti M.; 38
 Moracci G.; 5
 Moretti A.; 44
 Mulazzi A.; 11; 63
 Nascetti A.; 9
 Natsaridis N.; 43
 Neri B.; 57
 Nikolopoulou E.; 43
 Ntantisios A.N.; 43; 54
 Onofri A.; 25
 Ooghe S.; 51
 Oswald I.P.; 37
 Palumbo R.; 37
 Pantanali A.; 38
 Paoloni A.; 64
 Papageorgiou G.; 43; 54
 Pascale M.; 7; 49; 52; 67
 Pecchioni N.; 27; 66
 Pecorelli I.; 7; 25; 64
 Pettinelli A.; 34
 Piazza P.; 45
 Piccinelli R.; 34
 Piccinini S.; 69
 Pietri A.; 11
 Polonini G.; 20
 Porricelli A.C.R.; 49; 52
 Quaglia G.; 20
 Ranucci D.; 25
 Rastelli S.; 11; 63
 Reverberi M.; 9
 Reybroeck W.; 51
 Reyneri A.; 18; 28; 68
 Rodorigo D.; 30
 Roila R.; 25
 Roldan R.; 33
 Romani M.; 63
 Romero Assensio J.; 12
 Russo K.; 57
 Saner S.; 56
 Scala R.; 62
 Scarpino V.; 18; 28; 68
 Schatzmayr D.; 65
 Schuhmacher R.; 46
 Sdogati S.; 64
 Sette S.; 34
 Skliris A.; 54
 Slettengren K.; 67
 Soldano M.; 61; 69
 Sonogo E.; 6; 35
 Spanjer M.C.; 3
 Stadler D.; 46
 Steinkellner H.; 33
 Sulyok M.; 28; 68
 Suman M.; 46
 Toscano P.; 37
 Trevisi E.; 65
 Tricarico D.; 62
 Triolone D.; 57
 Tsaridou C.; 43
 Turrini A.; 34
 Urbano L.; 50
 Valiani A.; 15; 25
 Vanara F.; 28; 68

Vega A.; 67
Venancio A.; 37
Verdini E.; 64
Verstraete F.; 17

Viegas S.; 35
Villani A.; 19
von Holst C.; 7; 49
Voulgari D.L.; 54

*Stampato da De Vittoria s.r.l.
Via Alvari 36, 00155 Roma*

*Serie ISTISAN Congressi
aprile-giugno 2019 (n.2) 2° Suppl.*