

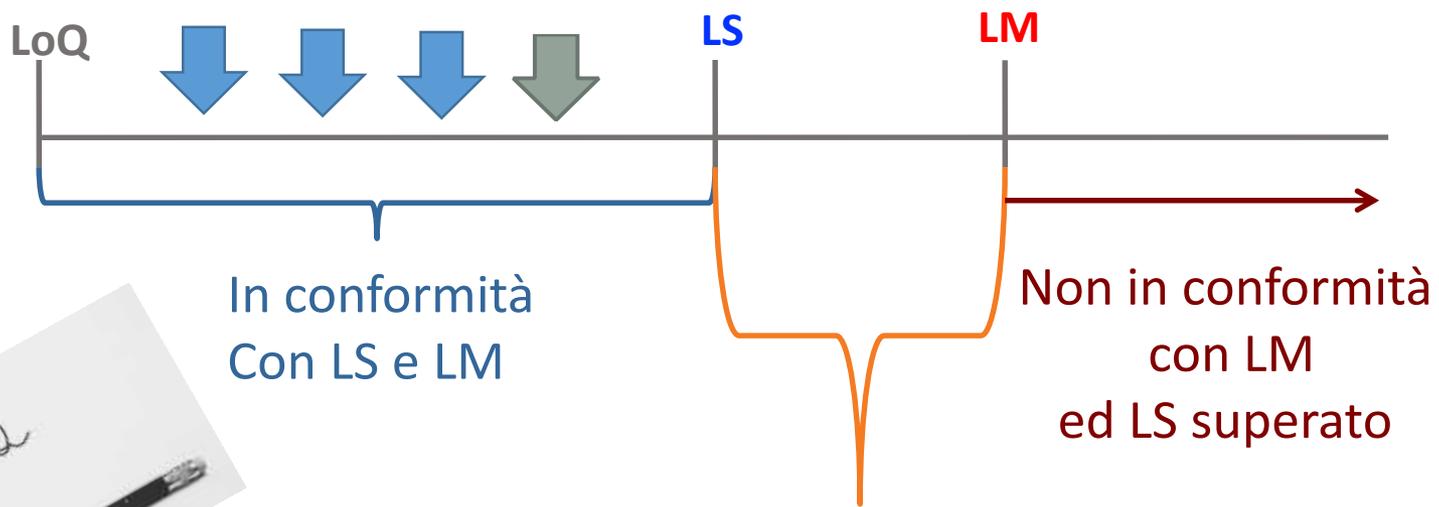
**VI CONGRESSO NAZIONALE  
MICOTOSSINE e TOSSINE VEGETALI nella FILIERA  
AGRO\_ALIMENTARE**

**Produzione di una farina innovativa destinata ai  
bambini di seconda e terza infanzia**

**Carlo Brera**

*Roma, 10-12 giugno 2019*

# Limite Massimo (LM) vs *Livello sicuro (LS)*



**In conformità con LM  
MA IL LS è SUPERATO**

**Un LM è stabilito sulla base del valore corrispondente al 75mo (95mo) percentile della distribuzione dei dati di incidenza e dalla valutazione del rischio**

## IL PROGETTO

Il progetto di ricerca dal titolo “Ricerca e sviluppo di una farina innovativa destinata ai bambini di seconda e terza infanzia” nasce nell’ambito di un accordo di collaborazione stretto tra l’Istituto Superiore di Sanità e l’azienda molitoria Molino Moras



## Caratterizzazione del profilo di:

- **deossinivalenolo**
- **metalli pesanti ed elementi in traccia**
- **sostanze allergizzanti**
- **fitofarmaci**
- **agenti patogeni**

in **farine di elezione prodotte in azienda** e destinate alla trasformazione in prodotti finiti caratterizzati da livelli di contaminazione sicuri per l’esposizione di bambini della seconda e terza infanzia.

## 1. Valutazione dei criteri da adottare nel processo produttivo

- Analisi delle fonti di contaminazione
- Esperienza acquisita
- Team di esperti

# Obiettivi del Progetto

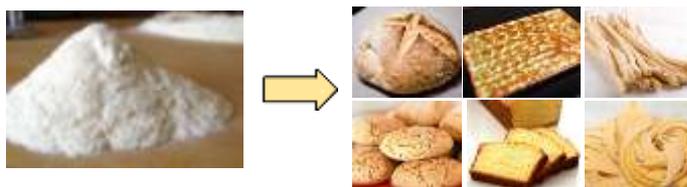
## 2. Trasferimento del DON:

- dal GRANO alla FARINA



- dalla FARINA a:

**PANE — FOCACCIA — GRISSINI**  
**— BISCOTTI — PLUM CAKE - PASTA**



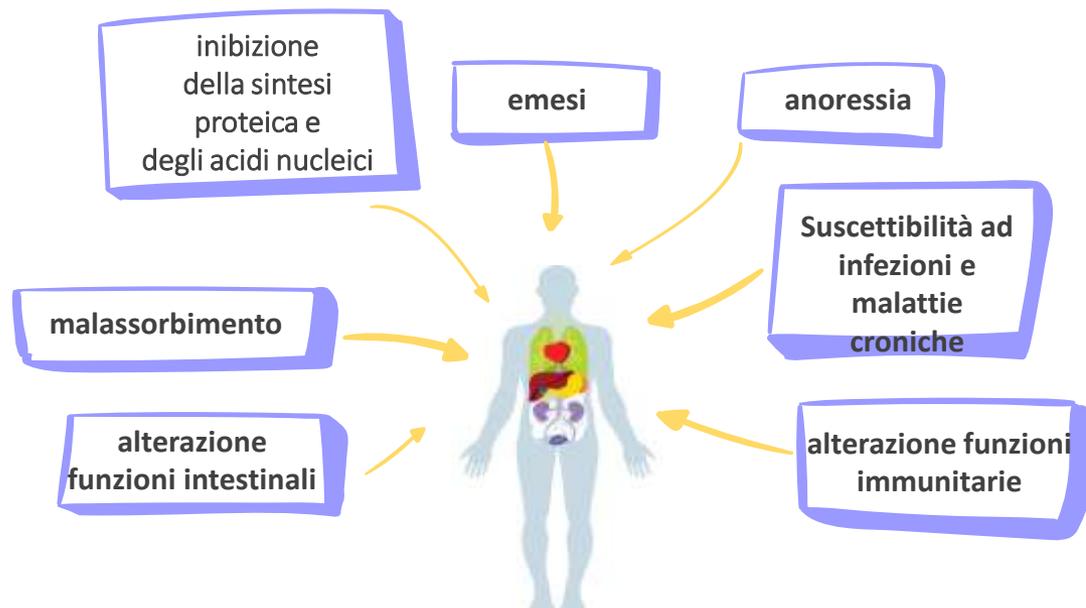
**Matrici interessate:**  
**frumenti teneri,**  
**farine tipo 0 e**  
**prodotti finiti**  
**derivati**

## 3. Valutazione della

**esposizione al DON** della fascia di consumatori dei bambini di seconda e terza infanzia, derivante dal consumo dei prodotti finiti prodotti a partire dalla farina innovativa

**Tricotecene** prodotto principalmente da *F. graminearum* e *F. culmorum*

- contaminante più noto e comune di cereali e derivati
- noto come «*vomitossina*» per i suoi forti effetti emetici in seguito al consumo
- rinvenuto nel 90% del numero totale di campioni
- potenziale marker della presenza di altre micotossine



## PROPRIETÀ

✓ **Termostabile (170°C ÷ 350°C)**

✓ **Solubile in acqua**

<b>Regolamento (CE) n. 1126/07</b>	<b>Deossinivalenolo (<math>\mu\text{g}/\text{kg}</math>)</b>
<b>Cereali non trasformati diversi dal grano duro,</b> dall'avena e dal granturco	<b>1250</b>
Grano duro e avena non trasformati	<b>1750</b>
Cereali destinati al consumo umano diretto, <b>farina di cereali</b> , crusca e germe come prodotto finito commercializzato per il consumo umano diretto	<b>750</b>
<b>Pasta</b> (secca)	<b>750</b>
<b>Pane</b> (compresi piccoli prodotti da forno), <b>prodotti della pasticceria, biscotteria, merende a base di cereali e</b> cereali da colazione	<b>500</b>
Alimenti a base di cereali trasformati e altri alimenti destinati ai lattanti e ai bambini	<b>200</b>

Comitato scientifico  
dell'alimentazione umana (SCF)

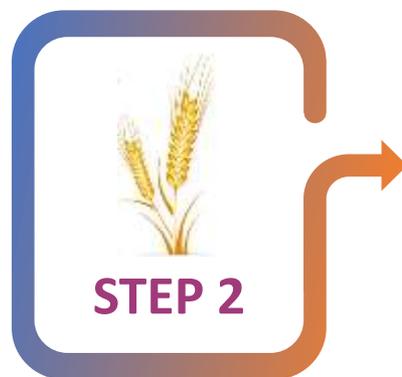


**DOSE GIORNALIERA  
TOLLERABILE (TDI) per il  
DEOSSINIVALENOLO  
1  $\mu\text{g}/\text{kg}$  p.c./die**

## ATTIVITÀ DI PROCESSO finalizzate alla produzione della farina innovativa



**Selezione dei fornitori**  
della materia prima



**Individuazione delle modalità di trasformazione**  
della materia prima dedicate alla produzione della farina innovativa



**Validazione di metodologie analitiche**  
dedicate ad una quantificazione attendibile del DON in 8 diverse matrici a base di grano



**Valutazione dell'esposizione**  
della fascia di consumatori (bambini di seconda e terza infanzia)

## 1 CAMPIONAMENTO IN AZIENDA

1. Campionamento in fase di accettazione
2. Scarico grano e campionamento ufficiale
3. Macinazione del grano
4. Campionamento della farina

## 3 PREPARAZIONE DEI PRODOTTI FINITI

1. PF1 - PANE
2. PF2 - FOCACCIA
3. PF3 - GRISSINI
4. PF4 - BISCOTTI
5. PF5 - PLUM CAKE
6. PF6 - PASTA ALL'UOVO



## 2 CAMPIONAMENTO IN LABORATORIO



- Conservazione a -20°C
- Grano: macinazione in due tempi
  - I. granulometria grossolana
  - II. setaccio 0,5 μm
- Campione 3kg steso, suddiviso in quadranti e campionato in modo randomizzato
- Sottocampioni  $\approx$  500 g

# METODO DI ANALISI

## ESTRAZION

E

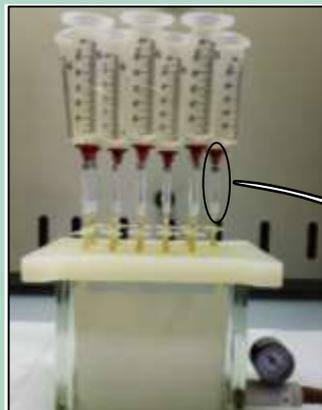
- 20,0 g di campione
- + 160 ml di H<sub>2</sub>O bi-dist.
- 3 min. agitazione
- centrifuga 9000 rpm x 10 min



## PURIFICAZION

E

- 30 ml di estratto nella siringa collegata alla IAC
- Lavaggio con 20 ml H<sub>2</sub>O



## ELUIZIONE

- eluizione con 750 µl (x2) di MeOH per HPLC
- raccolta del solvente
- **evaporazione** sotto flusso di N<sub>2</sub> (40°C)



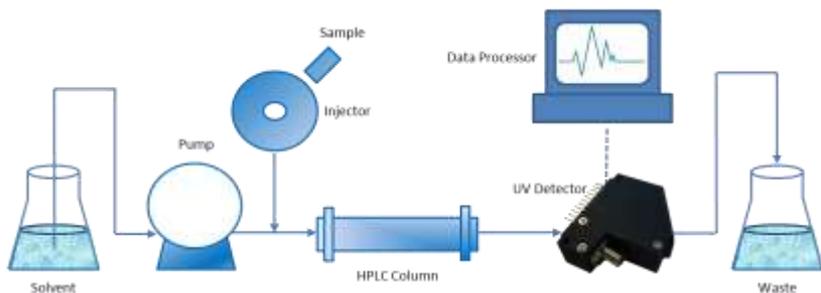
## RICOSTITUZIONE

- + 1000 µl solvente iniezione (H<sub>2</sub>O:MeOH: 90,5:9,5)
- 40 s vortex



## ANALISI HPLC - UV<sub>vis</sub>

- **Colonna cromatografica:** Symmetry<sup>®</sup> C18 in fase inversa, 3,5 μm, 4,6 mm x 150 mm, termostata a 40°C
- **Volume di iniezione:** 150 μl
- **Fase mobile:** H<sub>2</sub>O:MeOH per HPLC 85:15 v/v
- **Flusso (in colonna):** 1,0 ml/min
- **Rivelatore UV:** λ = 220 nm.



## CURVA DI TARATURA

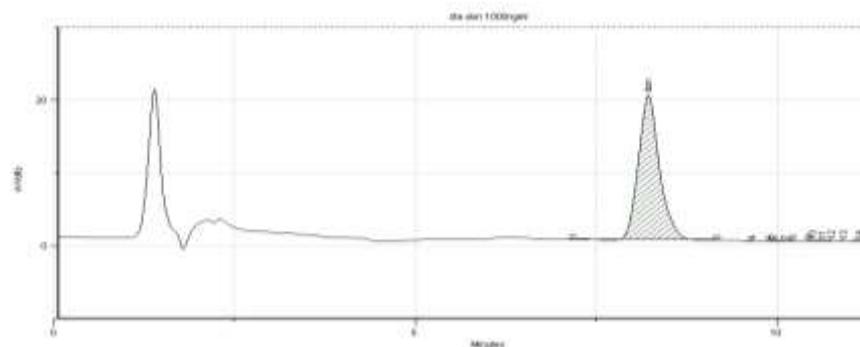
- MRC DON 100,5 μg/ml

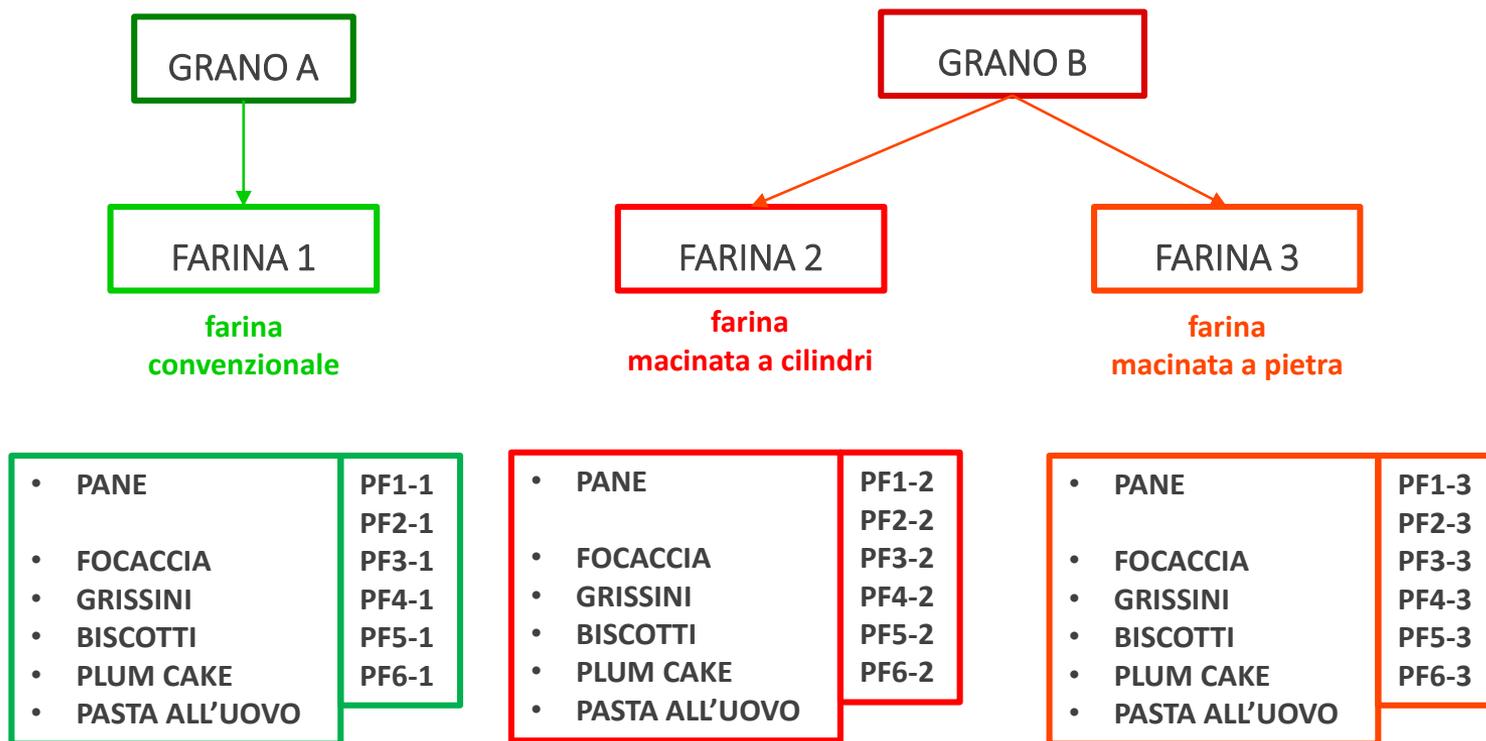


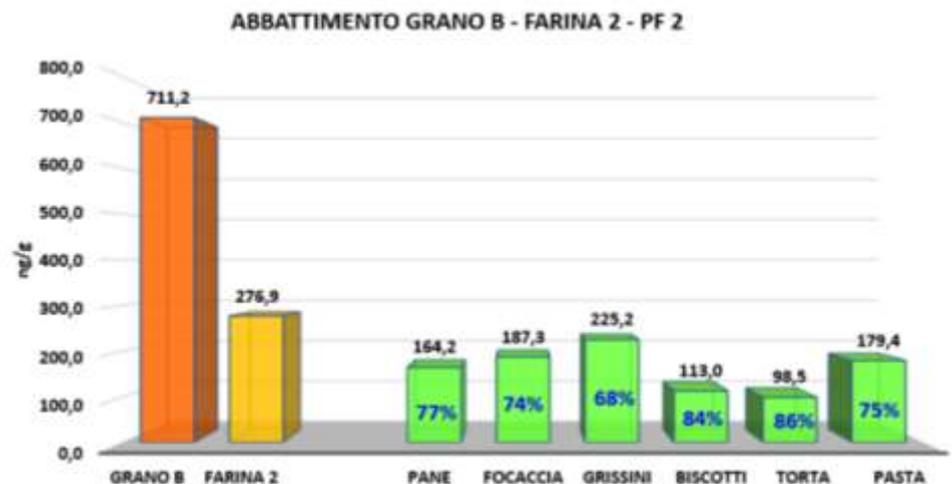
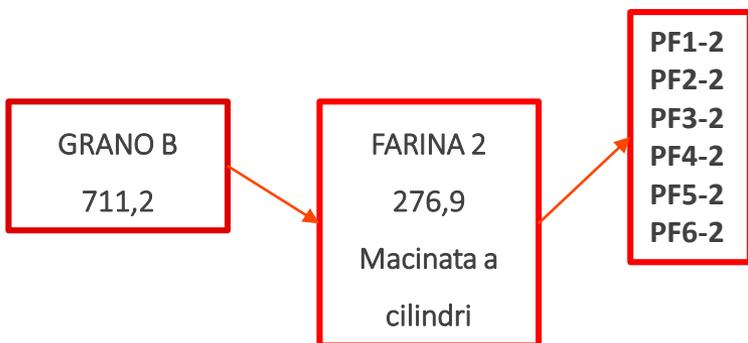
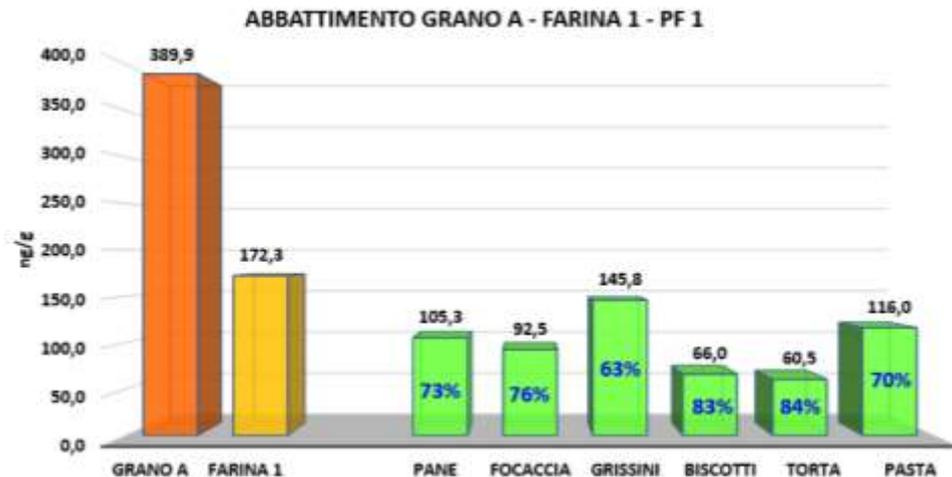
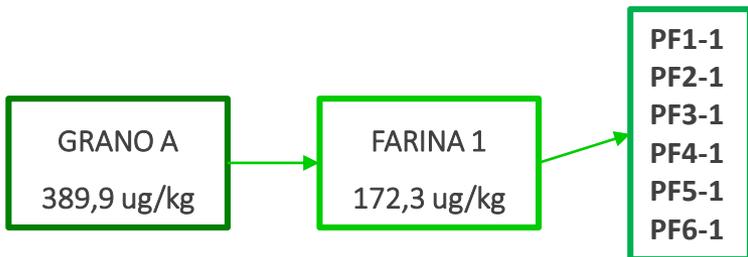
- 6 soluzioni di lavoro

- Iniezione in triplicato di ciascun livello (18 iniezioni tot.)

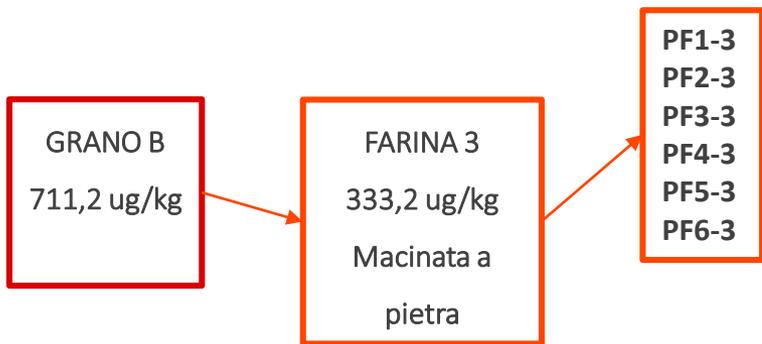
Soluzione di taratura n.	Concentrazione della soluzione (ng/ml)
1	80
2	100
3	250
4	500
5	1000
6	2000







# RISULTATI (II)



1. IDENTIFICAZIONE DEL PERICOLO
2. CARATTERIZZAZIONE DEL PERICOLO

TDI = dose giornaliera tollerabile

3. VALUTAZIONE DELL'ESPOSIZIONE

$$E = (ng/kg_{pc}/die)$$

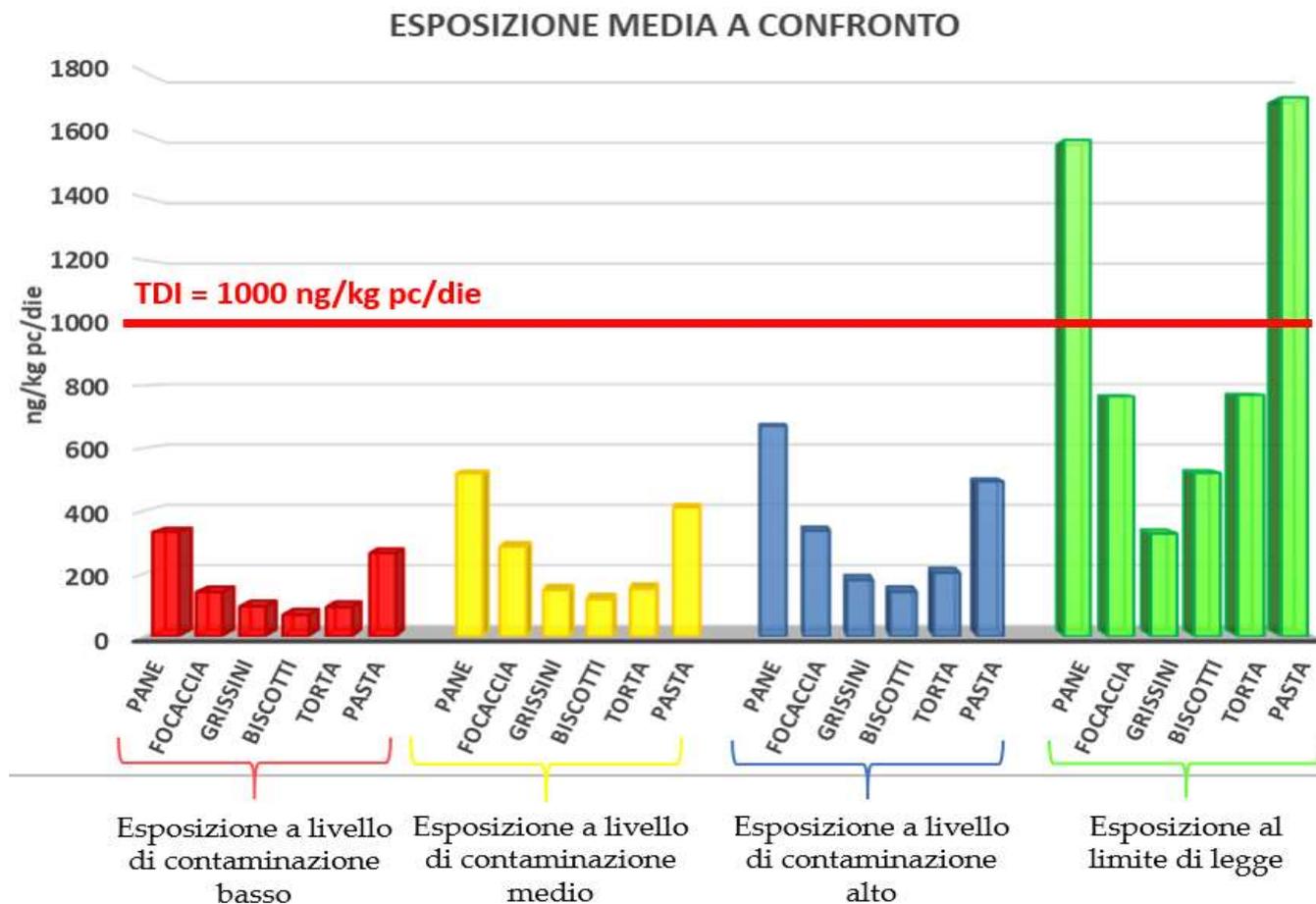
$$Exp = \frac{\text{contaminazione} \times \text{consumo alimento}}{\text{peso corporeo}}$$

APPROCCIO DETERMINISTICO

4. CARATTERIZZAZIONE DEL RISCHIO (R)

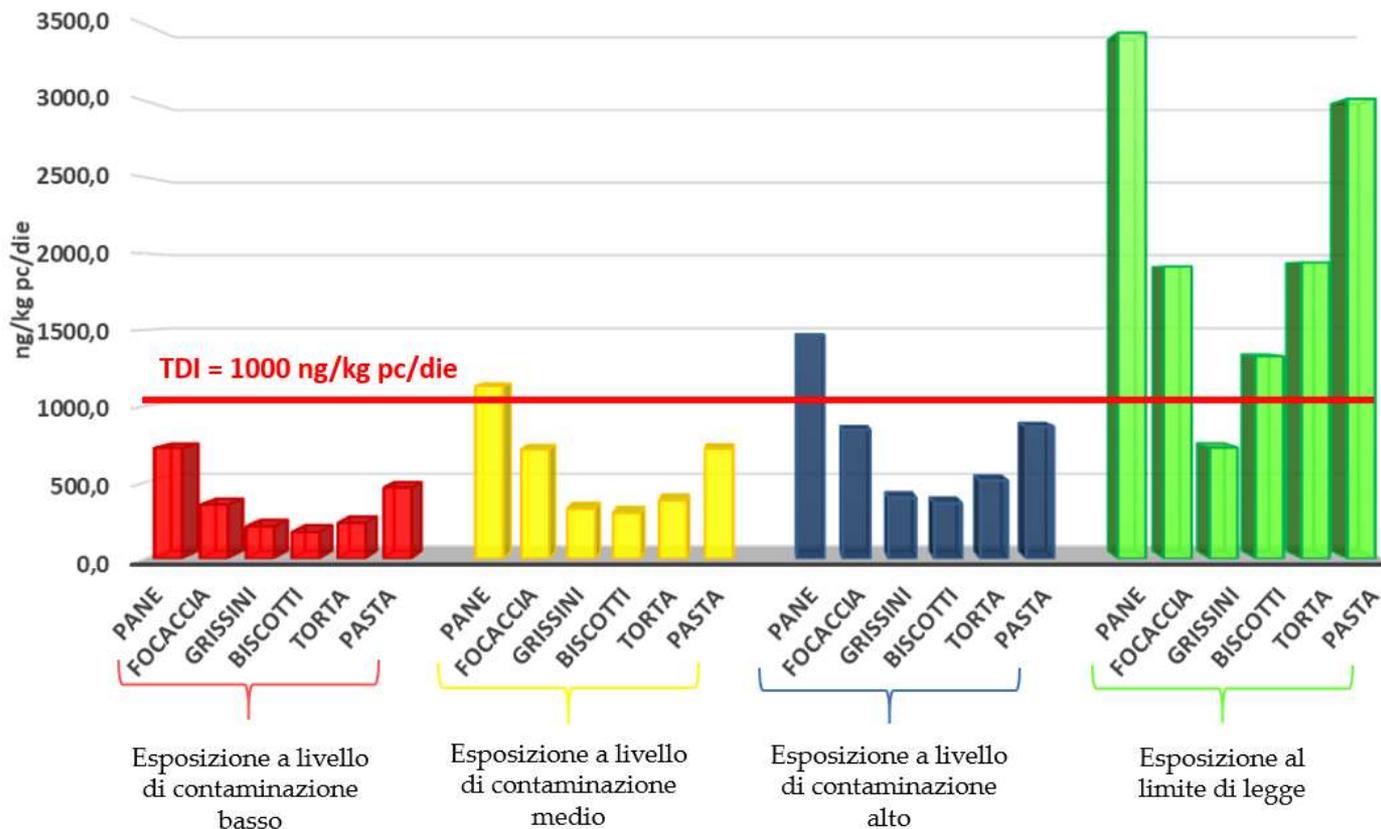
$$R = \frac{EXP}{TDI} * 100 \quad \textit{Per sostanze non cancerogene}$$

## RISULTATI (III)



# RISULTATI (IV)

ESPOSIZIONE AL 95° PERCENTILE A CONFRONTO



Il progetto ha dimostrato la fattibilità dei seguenti punti:

Il risultato ottenuto è di estrema importanza in quanto finora nessun prodotto alimentare è stato specificatamente prodotto sulla base dei criteri che hanno caratterizzato questo studio, vale a dire un prodotto alimentare che avesse come finalità la **tutela della salute** di una fascia di consumatori vulnerabile come quella dei **bambini di seconda e terza infanzia per i quali non sussiste una legislazione specificatamente rivolta a loro.**

In base al livello di abbattimento del DON dal grano alla farina e dalla farina ai prodotti finiti consente si è individuato un “livello di azione aziendale” (300 ug/kg  $\pm$  15%) del grano in entrata tale da soddisfare i requisiti di sicurezza d’uso dei prodotti finali destinati al consumo diretto da parte dei bambini, anche nel caso di una esposizione “cumulativa”, vale a dire derivante dal contributo anche di altri prodotti a base di grano

Le sei tipologie di prodotti finiti preparati a partire da tre diverse tipologie di farina innovativa hanno mostrato livelli di esposizione **media** oscillanti tra il 33% ed il 67% della TDI nel caso del pane, il 14% ed il 33% nel caso della focaccia, dal 9,5% al 18% nel caso dei grissini, dal 7% al 14% nel caso dei biscotti, dal 9% al 20% nel caso della torta-plumcake e dal 26% al 49% nel caso della pasta.

Anche nel caso dei bambini forti consumatori, utilizzando la farina innovativa a livelli di concentrazione pari a  $150 \pm 15\%$  ug/kg si ottengono valori di esposizione inferiori alla TDI per tutti i prodotti processati

**In relazione alla comunicazione al consumatore, Molino Moras sta progettando un packaging e una comunicazione appropriate che aiutino il consumatore nella comprensione e nella scelta, in cui si citerà la collaborazione con l'ISS e che rimanderà a documenti, abstracts, pubblicazioni che l'ISS produrrà in riferimento a questo studio.**

Questo progetto è stato reso possibile grazie alla collaborazione dei colleghi

## GRUPPO ISS

**Carlo Brera  
Barbara De Santis  
Emanuela Gregori  
Caterina De Santis**



Un ringraziamento speciale al  
**Dr Maurizio Monti**

## GRUPPO MOLINO MORAS

**Nicoletta Moras, Claudio Cecotti,  
Deborah Lizzi, Claudia Baldassi,  
Roberta Furlan, Anna Pantanali,  
Stefania Marzona, Giuditta Kravina**

