

LE MICOTOSSINE: ASPETTI GENERALI

La maggior parte dei prodotti alimentari di origine vegetale ed in particolare i cereali possono subire contaminazioni fungine durante ogni stadio del ciclo produttivo, dal campo alla fase di immagazzinamento, qualora si presentino le condizioni favorevoli alla crescita dei funghi.

Lo sviluppo di questi microrganismi può avere molteplici implicazioni, in particolare economiche e sanitarie, e portare, oltre che ad una riduzione della quantità e della qualità delle derrate, anche alla formazione di **micotossine**, ovvero metaboliti fungini secondari dotati di **attività tossica**.

In qualità di contaminanti dei mangimi destinati alle specie da reddito, le micotossine rappresentano un problema sanitario di primaria importanza. Gli attuali controlli di qualità e l'applicazione di standard internazionali per la coltivazione dei cereali, dei semi oleosi e delle foraggere, oltre che le moderne tecniche di preparazione dei mangimi hanno in larga misura ridotto la comparsa di micotossicosi a carattere epidemico. Esiste tuttavia notevole preoccupazione relativamente ai fenomeni di **tossicità cronica**, in quanto molte micotossine sono noti **carcinogeni, estrogeni** ed agenti **immunosoppressivi**.

Le derrate alimentari più a rischio di contaminazione diretta, derivante dallo sviluppo del fungo direttamente sul prodotto, sono rappresentate da **cereali** (mais, frumento, orzo e avena), **semi oleaginosi, spezie, frutta secca, cotone, manioca e cocco**.

La contaminazione indiretta dei prodotti di origine animale (latte, carne, uova e formaggi) avviene in seguito al fenomeno del "**carry over**", durante il quale le micotossine presenti nei mangimi contaminati vengono ingerite e depositate nei tessuti (carne) od escrete (latte).

Le micotossine di maggiore rilevanza per la salute dell'uomo e degli animali sono prodotte da funghi appartenenti a generi cosmopoliti quali **Aspergillus, Penicillium e Fusarium**, come riportato in Tabella 1.

Tabella 1 – Principali funghi produttori di micotossine

Micotossina	Principali funghi produttori
Aflatossine (AF)	<i>A. flavus, A. parasiticus, A. nomius</i>
Ocratossina A (OTA)	<i>A. ochraceus, A. niger, P. verrucosum</i>
Patulina	<i>P. expansum, P. vulpinum, P. griseofulvum</i>
Fumonisine (FB1 e FB2)	<i>F. verticillioides, F. proliferatum, F. subglutinans, F. dlamini, F. napiforme, F. nygamai</i>
Zearalenone (ZEA)	<i>F. graminearum, F. culmorum, F. equiseti</i>
Deossinivalenolo (DON)	<i>F. culmorum, F. graminearum</i>
Nivalenolo (NIV)	<i>F. graminearum, F. culmorum, F. equiseti</i>
Moniliformina (MON)	<i>F. acuminatum, F. proliferatum, F. subglutinans, F. avenaceum, F. tricinctum, F. chlamydosporum</i>
Tossina T-2 (T-2)	<i>F. sporotrichioides, F. acuminatum</i>

I generi *Aspergillus* e *Penicillium* sono diffusi in tutti gli ambienti e sono generalmente saprofiti, ovvero si sviluppano a carico di sostanza organica non più viva, come i residui colturali. Vengono comunemente definiti funghi "**di magazzino**", ovvero contaminanti di derrate e prodotti alimentari durante le fasi di lavorazione, essiccaamento e magazzinaggio.

Questi due generi fungini presentano una differente distribuzione geografica, che riflette le diverse condizioni ambientali necessarie alla loro crescita e al metabolismo secondario. Ad esempio alcuni funghi del genere *Aspergillus* si sviluppano rapidamente **in ambienti caldi e umidi**, mentre altri del genere *Penicillium* prediligono **climi temperati**.

Le micotossine prodotte da *Aspergillus* prevalgono quindi nei prodotti provenienti da **ambienti tropicali**, mentre le tossine prodotte da ceppi fungini appartenenti al genere *Penicillium* sono più frequenti nei prodotti tipici dei **climi temperati**.

I funghi del genere *Fusaria*, anch'essi ubiquitari, non tollerano invece la siccità e le alte temperature, mentre si sviluppano rapidamente in condizioni di **forte umidità** e con **temperature miti**, motivo per cui sono comunemente denominati "**funghi di campo**".

L'appartenenza dei diversi miceti alle categorie "di campo" o "di magazzino" non può comunque essere considerata univoca o assoluta, in quanto ad esempio la contaminazione di una partita di granella da parte di un fungo "di magazzino" spesso avviene in campo, per contatto con il suolo o con detriti. D'altra parte la presenza di micotossine originate da questi funghi può essere rilevata sui prodotti ancora prima della loro raccolta, qualora le condizioni ambientali ne favoriscano la biosintesi.

FATTORI CHE INFLUENZANO LA CRESCITA FUNGINA E LA SINTESI DELLE MICOTOSSINE

La contaminazione fungina dei prodotti destinati all'alimentazione dell'uomo e degli animali è un problema di difficile risoluzione, in quanto la **stabilità termica** delle micotossine permette loro di preservarsi durante la preparazione degli alimenti.

L'assenza di muffe in un substrato non è inoltre sempre indice di assenza delle tossine, e viceversa la presenza di ceppi fungini micotossigeni non implica necessariamente la presenza di micotossine, che vengono sintetizzate solo qualora si verificano opportune condizioni biosintetiche.

I principali fattori che influenzano la produzione di micotossine possono essere:

- di tipo **intrinseco**, ovvero legati al ceppo fungino;
- di tipo **estrinseco**, rappresentati cioè dall'insieme delle condizioni ecologiche dell'ambiente determinanti per lo sviluppo fungino e per la produzione di micotossine;
- di tipo **chimico, fisico-chimico e fisico**, quali l'attività dell'acqua (a_w) e la natura del **substrato**, la **temperatura** e la **composizione gassosa** dell'ambiente e i **danni meccanici** alle cariossidi;
- di tipo **biologico**, quali gli **insetti** (sia come vettori delle spore fungine che come agenti delle lesioni alle cariossidi, vie preferenziali per l'insediamento fungino), la **microflora** presente (con risultante competizione tra le specie fungine), lo **stress** della pianta (siccità) e la **resistenza del substrato**, intesa sia come **resistenza genetica** sia come integrità delle cariossidi (Haouet e Altissimi, 2003).

Il presupposto fondamentale per la produzione di micotossine, considerando i fattori di diversa natura sopra riportati, è costituito dall'insieme delle caratteristiche ambientali, che ovviamente devono essere favorevoli alla crescita fungina.

I fattori che maggiormente influenzano lo sviluppo fungino sono **l'attività dell'acqua (a_w)**, la **temperatura**, il **pH** e l'**ossigeno**. La conoscenza di queste variabili e delle esigenze dei diversi funghi è di fondamentale importanza per la messa a punto di strategie di prevenzione che ambiscano a limitare la produzione di micotossine negli alimenti ostacolando la crescita dei funghi produttori.

Per tutti gli scambi metabolici i microrganismi necessitano di acqua e ogni sottrazione di questo elemento comporta un ritardo nello sviluppo.

Come si può notare osservando i valori riportati in Tabella 2, la disponibilità di acqua richiesta per la crescita fungina è differente da quella necessaria per la sintesi delle micotossine.

Tabella 2 – Valori di a_w necessari per la crescita e la tossinogenesi di alcune specie fungine

Specie fungina	Crescita (a_w)		Tossinogenesi (a_w)	
	Minimo	Optimum	Minimo	Optimum
<i>A. flavus</i>	< 0,80	0,99	0,82	0,95 – 0,99
<i>A. parasiticus</i>	0,84	0,99	0,82	0,95 – 0,99
<i>A. ochraceus</i>	0,77	0,99	0,80	0,95 – 0,99
<i>P. verrucosum</i>	0,80			
<i>F. verticilloides</i>	0,87		0,90	
<i>F. graminearum</i>	0,90		0,97	
<i>F. moniliforme</i>	0,87		0,92	
<i>F. proliferatum</i>	0,87		0,92	

Da: Northolt et al., 1977; Pitt e Miscamble, 1995; ICMSF, 1996; Kozakiewicz e Smith, 1994; Pitt e Christian, 1968; Adebajo et al., 1994.

Per quanto concerne le condizioni termiche necessarie allo sviluppo, i funghi possono essere raggruppati in tre grandi categorie:

- **psicrofili** (che si sviluppano a temperature basse);
- **mesofili** (che si sviluppano a temperature moderate);
- **termofili** (che si sviluppano a temperature elevate).

In massima parte i funghi sono mesofili, sviluppandosi entro i 10 e i 35 °C, benché con tolleranze diverse all'interno di questo intervallo e con valori ottimali tra 20 e 30 °C.

Indicazioni più dettagliate sulle esigenze termiche di alcune specie fungine sono fornite in Tabella 3.

Tabella 3 – Valori di temperatura necessari per la crescita e la tossinogenesi di alcune specie fungine

Specie fungina	T di crescita (°C)		T di tossinogenesi (°C)	
	Intervallo	Optimum	Intervallo	Optimum
<i>A. flavus</i>	10- 43	32 - 38	12 - 40	
<i>A. parasiticus</i>				
<i>A. ochraceus</i>	8 - 37	24 - 37	12 - 37	31
<i>P. verrucosum</i>	0 - 31	20		
<i>F. verticilloides</i>		22,5 - 27,5		15 - 30
<i>F. graminearum</i>		24 - 26		18 - 29,5
<i>F. sporotrichioides</i>	-2 - 35	22,5 - 27,5		
<i>F. culmorum</i>	0 - 31	21		25
<i>F. proliferatum</i>	2- 37	22,5 - 27,5	> 25 - 30	

Da: ICMSF, 1996; Koehler et al., 1985; Pitt e Hocking, 1997; Sweeney et al., 1998.

Per quanto riguarda il pH, la maggior parte dei funghi si sviluppa nell'intervallo tra 4,0-8,5 o talora anche tra 3,0-9,0, e mostra optimum di crescita relativamente ampi, tra 5,0 e 7,0. Nonostante ciò alcuni funghi, fra i quali alcune specie di *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium*, sono acido tolleranti in quanto capaci di crescere anche a pH 2,0, ma con un optimum in coltura pari a 5,5-6,0.

I valori di pH specie-specifici dei funghi di principale interesse per i prodotti alimentari sono riportati in Tabella 4.

Tabella 4 – Valori di pH necessari per la crescita e la tossinogenesi di alcune specie fungine.

Specie fungina	Crescita pH		Tossinogenesi pH	
	Minimo	Optimum	Minimo	Optimum
<i>A. flavus</i>	2.1	3.5 – 8.0	3.5	6.0
<i>A. parasiticus</i>				
<i>A. ochraceus</i>	2.2	3.0 – 10.0		
<i>P. verrucosum</i>	2.1	6.0 – 7.0		

Da: Buchanan e Ayres, 1976; ICMSF, 1996; Wheeler et al., 1991

Considerando infine l'ossigeno, quasi tutti i funghi sono organismi **aerobi stretti**, che necessitano cioè di ossigeno almeno in una fase del ciclo vitale.

MICOTOSSINE E ALIMENTI

Produzione di micotossine in campo

Le condizioni essenziali per la produzione di micotossine in preraccolta sono diverse, ma sicuramente le più importanti sono la presenza contemporanea di un **fungo**, di un **ospite sensibile** e delle **condizioni climatiche idonee** allo sviluppo del fungo.

I fattori che favoriscono lo sviluppo dei funghi in campo includono un alto grado di **umidità relativa** (maggiore del 70%) e forti **escursioni termiche**. Oltre ai fattori climatici l'aggressione della pianta ospite da parte degli insetti è particolarmente predisponente nei confronti dell'infezione.

Le piante presentano dei meccanismi naturali di resistenza, ma in condizioni di stress quali **carenze minerali**, aumento della **salinità** del suolo, attacco da **insetti** e **stress idrico** possono diventare suscettibili. L'infezione della pianta è più frequente nella fase dell'antesi (apertura del fiore) ed è necessario che la superficie vegetale sia umida per 48-60 ore a temperatura non inferiore ai 15 °C.

Fra i ceppi fungini che frequentemente attaccano le piante in campo, quelli appartenenti al genere *Fusarium* presentano delle esigenze termiche comprese tra i 5 ed i 30 °C con un optimum a 25 °C, richiedono un'umidità relativa ambientale piuttosto elevata e sono in grado di persistere a lungo nel suolo e nei residui dei tessuti vegetali che permangono a terra dopo la mietitura. I funghi del genere *Aspergillus* (in particolare *A. flavus* e *A. parasiticus*) possono sintetizzare le aflatossine su qualsiasi pianta infettata, ma il pericolo esiste soprattutto nelle regioni a clima tropicale o simile. Elevati livelli di contaminazioni da aflatossine sono stati osservati in genere su mais, arachidi e uva, mentre altre leguminose come soia e fagiolo, e altri cereali quali sorgo, frumento, orzo, avena e riso sono normalmente resistenti.

In linea generale l'alto contenuto di micotossine nei cereali sembra correlato ad alti livelli di umidità in campo, in particolare durante l'ultima fase di accrescimento e prima della raccolta.

Produzione di micotossine in post-raccolta

I funghi cosiddetti "**di magazzino**" normalmente si rinvencono dopo la raccolta ed alcuni di essi, isolati da insilato, sono in grado di svilupparsi anche in condizioni di **parziale anaerobiosi** e di pH basso, anche se in questo caso il loro potenziale di sopravvivenza è limitato dalla **competizione con i batteri anaerobi**. In genere lo sviluppo dei funghi di magazzino è favorito da valori di pH della massa insilata piuttosto alti, condizione dovuta ai lieviti consumatori di acido lattico che si attivano con l'introduzione di ossigeno al momento dell'apertura del silos.

Per quel che riguarda le granelle è necessario tenere in debita considerazione le condizioni che si possono instaurare quando le cariossidi vengono disposte in **cumuli** dal **post-raccolta** fino

all'essiccazione. Durante questo periodo i semi non essiccati, per effetto della loro stessa respirazione, si riscaldano instaurando nella massa **condizioni caldo-umide** favorevoli allo sviluppo fungino e alla sintesi di micotossine la cui concentrazione risulta di conseguenza essere proporzionale ai tempi di attesa in essiccatoio, all'umidità del prodotto e alla temperatura ambientale.

Studi recenti condotti per verificare l'influenza delle condizioni di pre-stoccaggio del mais non essiccato sulla contaminazione fungina e la relativa produzione di micotossine, hanno permesso di riscontrare un aumento della contaminazione con il procedere della permanenza della granella nei cumuli umidi, differenti crescite delle diverse specie e produzione di diverse tossine in funzione dell'aumento della temperatura. Le nuove condizioni che si vengono via via a creare nei cumuli sfavoriscono infatti le specie prevalenti nel corso della maturazione della granella in campo, favorendone altre di **natura termofila e saprofitaria**. In relazione all'aumento della temperatura è stata inoltre osservata una diminuzione delle infezioni da parte di ceppi appartenenti al genere *Fusarium*, in particolare *F. verticillioides*, prevalente al momento della formazione dei cumuli (2-3 ore dalla trebbiatura), a cui è corrisposto un aumento della presenza di *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp..

Mentre la sintesi delle micotossine da *Fusarium* avviene principalmente durante la fase di coltivazione, la produzione di aflatossine e ocratossina ad opera rispettivamente di *Aspergillus* e *Penicillium* si verifica soprattutto durante lo stoccaggio degli alimenti.

Al contrario di quanto si verifica durante la coltivazione (formazione di aflatossine in paesi tropicali e subtropicali), la sintesi delle aflatossine durante l'immagazzinamento può avvenire anche nelle zone temperate e più fredde.

L'umidità della granella al momento dell'allestimento dei cumuli ed i tempi di attesa prima dell'essiccamento hanno una grande influenza sulla produzione e la presenza di micotossine in stoccaggio. Valori di umidità di raccolta superiori al 24-26% determinano infatti una più rapida fermentazione e un deterioramento della massa e l'aumento del rischio di tossinogenesi e di conseguente contaminazione. Al contrario la granella raccolta con valori di umidità del 20-22% risulta notevolmente più stabile e quindi con minori rischi di inquinamento.

Sfortunatamente data la grande varietà di fattori predisponenti lo sviluppo dei funghi, le micotossine sono in grado di contaminare la maggior parte degli alimenti ad uso zootecnico. Sono soggetti a sviluppo fungino gli insilati di mais, attualmente maggiori responsabili delle contaminazioni, e altre materie prime quali mais, orzo, grano, semi di cotone e sorgo, oltre che loro sottoprodotti conservati o manipolati in modo non corretto.

Diffusione delle micotossine nella catena alimentare

Uno degli aspetti più preoccupanti dell'inquinamento da micotossine riguarda la possibilità che

queste sostanze possano arrivare, attraverso i diversi passaggi della **catena alimentare**, in una derrata destinata al consumo umano normalmente ritenuta non a rischio di sviluppo fungino.

Tra gli alimenti di origine animale, il **latte** è uno dei prodotti in cui la **migrazione di aflatossine** è più consistente, qualora le bovine assumano alimenti molto contaminati. Le aflatossine sono dei derivati della **cumarina** e subiscono nel fegato una trasformazione in metaboliti polari, generalmente meno tossici, che possono essere eliminati attraverso l'urina. Nonostante ciò durante la detossificazione può esserci la formazione di un prodotto secondario molto reattivo in grado di legarsi, oltre che alle molecole di RNA e DNA, anche alle proteine cellulari. Ne consegue la comparsa di molecole idrossilate delle aflatossine B1 e B2, denominate **M1 e M2** e associate alle proteine del latte, che possono quindi essere ritrovate in seguito anche nei prodotti lattierocaseari.

Il **tasso di carry-over** (trasferimento) nel latte della AFB1 ingerita è influenzato da numerosi fattori. Nelle bovine può variare da meno dell'1 al 3% con punte fino al 6% riportate all'inizio della lattazione. Alcuni autori hanno elaborato equazioni di previsione della contaminazione del latte partendo dalla quota ingerita, ma spesso i risultati ottenuti matematicamente non corrispondono al reale livello di inquinamento e a quanto riscontrato durante prove sperimentali.

La cinetica e il metabolismo delle tossine funginee negli animali lattiferi sono influenzati da numerosi fattori difficilmente standardizzabili tra cui:

- livello e fonte di contaminazione
- concentrazione della tossina nella razione
- ingestione giornaliera complessiva di alimento e ingestione di tossina
- livello di assorbimento intestinale della tossina
- funzionalità epatica
- quota di tossina escreta per altre vie (urina) o metabolizzata a composti non tossici
- stadio di lattazione
- razza e livello produttivo
- variabilità individuale

Gli stessi autori, considerate queste variabili, hanno elaborato una serie di equazioni per prevedere, partendo dall'ingestione e dal livello produttivo piuttosto che dalla contaminazione della razione, la corrispondente contaminazione del latte o dell'alimento.

Nonostante i risultati non sempre coerenti pare che il limite di contaminazione da AFB1 della razione imposto dai regolamenti comunitari (5 µg/kg) garantisca la sicurezza del latte e il rispetto del relativo limite di contaminazione da AFM1 (0,05 µg/kg), anche autori consigliano un limite massimo di contaminazione della razione pari a 4 µg /kg.

I rischi di carry-over di altre micotossine nel latte sembrano fortunatamente minori. Nel latte di

bovine alimentate con una razione contenente 75 ppm (mg/kg) di fumonisina B1 non sono state trovate tracce della tossina (Richard et al., 1996) e la perfusione della tossina in mammella non ha provocato un trasferimento nel latte tale da poter essere considerato un rischio per la salute umana.

Tra i tricoteceni sembra che nè il **DON** nè il suo maggiore metabolita DOM-1 vengano escreti nel latte, nemmeno partendo da livelli di contaminazione della dieta di 6,4 ppm (mg/kg) protratti per alcune settimane.

La tossina **T-2** è stata invece individuata nel latte con dosaggi di tossina comunque difficilmente raggiungibili in condizioni normali negli alimenti, a meno di una evidente contaminazione da muffe. Per questa tossina pare non esserci un rischio concreto per la salute dei consumatori, anche se probabilmente saranno necessari studi approfonditi per valutare il trasferimento non solo della tossina tal quale, ma anche dei suoi derivati e metaboliti nel latte.

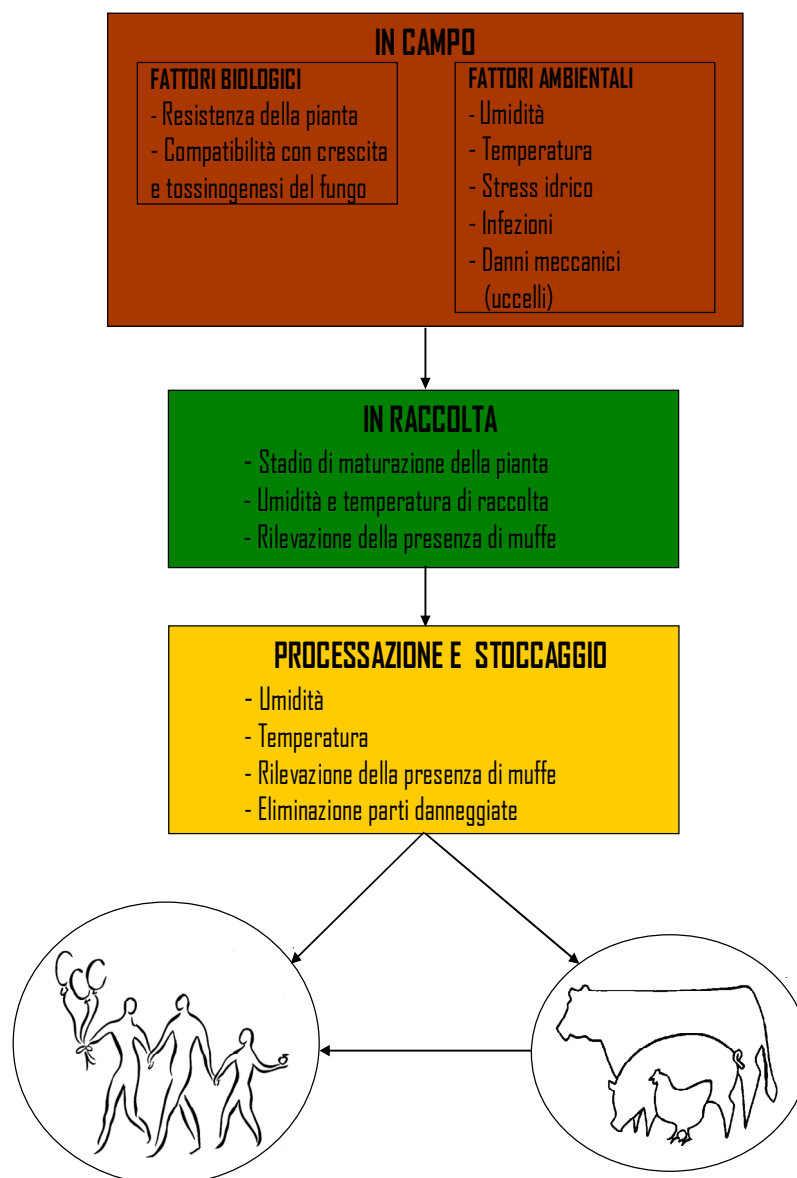
Anche il rischio di trasferimento al latte dell'**OTA** o del suo idrolisato **OTA- α** sembra essere molto basso anche in presenza di contaminazioni massive, dato che l'inquinamento del latte in ogni caso risulta largamente al di sotto delle disposizioni legislative relative agli alimenti destinati al consumo umano.

Per lo **zearalenone** non sono previsti limiti di contaminazione e in base a diversi studi è stato precisato che il latte bovino non costituisce una possibile fonte dello zearalenone o dei suoi derivati.

Per quanto riguarda le **uova**, la contaminazione da micotossine è piuttosto rara e deriva generalmente dalla somministrazione di mangimi fortemente inquinati. Per la migrazione delle aflatossine ad esempio è stato calcolato un fattore di conversione pari a 2200 (occorrono cioè 2200 ppb nei mangimi per ritrovare 1 ppb di tossina nelle uova deposte).

In seguito a queste considerazioni appare evidente che gli aspetti che portano a considerare le micotossine come un problema di primaria importanza per la salute dell'uomo e degli animali sono molteplici e di varia natura. Nella prima parte della catena alimentare comprendono la diffusione degli organismi in grado di produrre micotossine, la capacità di adattamento di tali organismi (capaci di svilupparsi sui substrati più svariati) e il rischio di contaminazione in pre-raccolta, in raccolta e in post-raccolta. Oltre al rischio di contaminazione dei prodotti destinati all'alimentazione dell'uomo e degli animali è necessario tenere conto anche della possibilità che queste tossine si accumulino nell'organismo degli animali da reddito e vengano successivamente trasferite nei prodotti derivati.

Fattori che influenzano la presenza delle micotossine nella catena alimentare



Disposizioni legislative

La diffusione della contaminazione da micotossine e la sua pericolosità per la salute dell'uomo e degli animali da reddito, hanno spinto alla graduale imposizione di **limiti normativi** relativi alla concentrazione di diverse tossine negli alimenti destinati al consumo umano e animale, in funzione della gravità degli effetti e della sensibilità delle specie.

La Commissione della Comunità Europea con la **Direttiva 2003/100/CE** del 31 ottobre 2003 ha fissato il contenuto massimo di aflatossina B1 nei mangimi destinati all'alimentazione degli animali (Tabella 5). I valori di riferimento relativi invece alla presenza di DON (deossinivalenolo), ocratossina A (OTA), tossine T-2 e HT-2 e fumonisine in prodotti destinati all'alimentazione degli animali sono stati indicati nella **Raccomandazione della Commissione** del 17 agosto 2006 (**2006/576/CE**) (Tabella 6).

Tabella 5 – Direttiva 2003/100/CE della Commissione del 31 Ottobre 2003.

Prodotti destinati all'alimentazione degli animali	Contenuto massimo di AFB1 in mg/Kg (ppm) di mangime al tasso di umidità del 12%
Tutte le materie prime per mangimi	0,020
Mangimi completi per bovini, ovini e caprini ad eccezione di:	0,020
- mangimi completi per animali da latte	0,005
- mangimi completi per vitelli e agnelli	0,010
Mangimi completi per suini e pollame (salvo animali giovani)	0,020
Altri mangimi completi	0,010
Mangimi complementari per bovini, ovini e caprini (ad eccezione dei mangimi complementari per animali da latte, vitelli e agnelli)	0,020
Mangimi complementari per suini e pollame (salvo animali giovani)	0,020
Altri mangimi complementari	0,005

Tabella 6 – Raccomandazione della Commissione del 17 agosto 2006 sulla presenza di deossinivalenolo, zearalenone, ocratossina A, tossine T-2 e HT-2 e fumonisine in prodotti destinati all'alimentazione animale (2006/576/CE).

Micotossina	Prodotti destinati all'alimentazione degli animali	Valore di riferimento (mg/Kg) di mangime al tasso di umidità del 12%
Deossinivalenolo	<i>Materie prime per mangimi</i>	
	- Cereali e prodotti a base di cereali, fatta eccezione per i sottoprodotti del granoturco	8,00
	- Sottoprodotti del granoturco	12,00
	<i>Mangimi complementari e completi, ad eccezione di:</i>	5,00
	- mangimi complementari e completi per suini	0,90
	- mangimi complementari e completi per vitelli (< 4 mesi), agnelli e capretti	2,00
Zearalenone	<i>Materie prime per mangimi</i>	
	- Cereali e prodotti a base di cereali, fatta eccezione per i sottoprodotti del granoturco	2,00
	- Sottoprodotti del granoturco	3,00
	<i>Mangimi complementari e completi</i>	
	- per suinetti e scrofette (giovani scrofe)	0,10
	- per scrofe e suini da ingrasso	0,25
- per vitelli, bovini da latte, ovini (inclusi agnelli) e caprini (inclusi capretti)	0,50	
Ocratossina A	<i>Materie prime per mangimi</i>	
	- Cereali e prodotti a base di cereali	0,25
	<i>Mangimi complementari e completi</i>	
- per suini	0,05	
- per pollame	0,10	
Fumonisine B1+B2	<i>Materie prime per mangimi</i>	
	- Granoturco e prodotti derivati	60,00
	<i>Mangimi complementari e completi per</i>	
	- suini, equini (<i>Equidi</i>), conigli e animali da compagnia,	5,00
	- pesci,	10,00
	- pollame, vitelli (< 4 mesi), agnelli e capretti,	20,00
- ruminanti adulti (> 4 mesi) e visoni	50,00	

Per quanto riguarda la presenza di micotossine nei prodotti alimentari ad uso umano, i limiti sono stati specificati a livello comunitario nel **Regolamento (CE) N. 1881/2006**, che ha abrogato il Regolamento (CE) N. 466/2006 e le successive modifiche. Il 28 settembre 2007 è stato pubblicato nella Gazzetta Ufficiale dell'Unione Europea, il Regolamento (CE) N. 1126/2007 che ha modificato il Regolamento (CE) N. 1881/2006 con i nuovi tenori massimi di deossinivalenolo, zearalenone e fumonisine nei prodotti alimentari (nelle Tabelle 7 e 8 sono riportati alcuni dei tenori massimi imposti dai rispettivi Regolamenti). Con il **Regolamento (CE) N. 165/2010** del 26 febbraio 2010 è stato ulteriormente modificato il Regolamento (CE) N. 1881/2006, e sono stati stabiliti i nuovi tenori massimi di contaminanti per prodotti alimentari quali le mandorle, le nocciole ed i pistacchi. Questo regolamento è entrato in vigore il 9 marzo 2010.

Tabella 7 - Regolamento (CE) N. 1881/2006 della Commissione del 19 dicembre 2006 che definisce i tenori massimi di alcuni contaminanti nei prodotti alimentari.

Prodotti alimentari	Tenori massimi (µg/kg)		
	<i>B1</i>	<i>Somma di B1, B2, G1 e G2</i>	<i>M1</i>
Aflatossine			
Tutti i cereali e loro prodotti derivati, compresi i prodotti trasformati a base di cereali, eccetto i prodotti alimentari di seguito elencati	2,00	4,00	
Granturco da sottoporre a cernita o ad altro trattamento fisico prima del consumo umano o dell'impiego quale ingrediente di prodotti alimentari	5,00	10,00	
Latte crudo, latte trattato termicamente e latte destinato alla fabbricazione di prodotti a base di latte			0,050
Alimenti a base di cereali destinati ai lattanti e ai bambini	0,10		
Alimenti per lattanti e alimenti di proseguimento, compresi il latte per lattanti e il latte di proseguimento			0,025
Alimenti dietetici a fini medici speciali destinati specificatamente ai lattanti	0,10		0,025
Ocratossina A			
Cereali non trasformati		5,00	
Tutti i prodotti derivati dai cereali non trasformati, compresi i prodotti trasformati a base di cereali e i cereali destinati al consumo umano diretto, eccetto i prodotti alimentari di seguito elencati		3,00	
Alimenti a base di cereali e altri alimenti destinati ai lattanti e ai bambini		0,50	
Alimenti dietetici a fini medici speciali destinati specificatamente ai lattanti		0,50	

Tabella 8 – Regolamento (CE) N. 1126/2007 della Commissione del 28 settembre 2007 che modifica il regolamento (CE) n. 1881/2006 che definisce i tenori massimi di alcuni contaminanti nei prodotti alimentari per quanto riguarda le *Fusarium*-tossine nel granoturco e nei prodotti a base di granoturco.

Prodotti alimentari	Tenori massimi (µg/kg)
Deossivalenolo	
Cereali non trasformati diversi da grano duro, avena e granoturco	1250
Grano duro e avena non trasformati	1750
Granoturco non trasformato ad eccezione del granoturco non trasformato destinato alla molitura ad umido	1750
Cereali destinati al consumo umano diretto, farina di cereali, crusca e germe come prodotto finito commercializzato per il consumo umano diretto (eccetto alcuni prodotti elencati nel regolamento stesso, fra cui il seguente)	750
Alimenti a base di cereali trasformati e altri alimenti destinati ai lattanti e ai bambini	200
Zearalenone	
Cereali non trasformati diversi dal granoturco	100
Granoturco non trasformato ad eccezione del granoturco non trasformato destinato alla molitura ad umido	350
Cereali destinati al consumo umano diretto, farina di cereali, crusca e germe come prodotto finito commercializzato per il consumo umano diretto (eccetto alcuni prodotti elencati nel regolamento stesso, fra cui i seguenti)	75
Granoturco destinato al consumo umano diretto, merende a base di granoturco e cereali da colazione a base di granoturco	100
Alimenti a base di cereali trasformati (esclusi quelli a base di granoturco) e altri alimenti destinati ai lattanti e ai bambini	20
Alimenti a base di granoturco e altri alimenti destinati ai lattanti e ai bambini	20
Fumonisine	
Granoturco non trasformato ad eccezione del granoturco non trasformato destinato alla molitura ad umido	4000
Granoturco destinato al consumo umano diretto, prodotti a base di granoturco destinati al consumo umano diretto, ad eccezione degli alimenti elencati di seguito	1000
Cereali da colazione e merende a base di granoturco	800
Alimenti a base di granoturco e altri alimenti destinati ai lattanti e ai bambini	200

MISURE PREVENTIVE PER IL CONTENIMENTO DELLA CONTAMINAZIONE DA MICOTOSSINE NEI CEREALI

Dal momento che la contaminazione da micotossine può avvenire non solo prima della raccolta, ma anche durante la raccolta, l'immagazzinamento e la lavorazione dei prodotti, le tecniche di prevenzione dovrebbero essere applicate ad ognuna di queste fasi.

Nel 2002 il **Codex Alimentarius** ha sviluppato delle **linee guida** di buona pratica al fine di prevenire e ridurre il contenuto di micotossine nei cereali e nella frutta (mele e arachidi). I produttori dovrebbero mettere in pratica i principi forniti dal **General Code of Practice del Codex** tenendo conto della coltura, del clima e delle pratiche agronomiche. Tali linee guida sono denominate Good Agricultural Practice (GAP) e Good Manufacturing Practice (GMP).

Preraccolta

Scelta varietale

All'interno del percorso agronomico volto alla riduzione degli stress per la coltura, la **semina anticipata** rappresenta un fattore di primaria importanza per il miglioramento della qualità delle produzioni e per ottenere evidenti vantaggi produttivi. Questi effetti positivi si ottengono grazie al verificarsi simultaneo di alcune condizioni:

- **anticipo della fioritura**, che sfugge in questo modo al periodo più critico di siccità estiva;
- **riduzione dell'esposizione alle larve** di seconda generazione della **piralide** (*Ostrinia nubilalis*). Gli stadi larvali più dannosi compaiono così in un momento in cui la fase di riempimento della granella è più avanzata e conseguentemente il danno produttivo si riduce;
- raggiungimento precoce dell'**umidità ottimale di raccolta**. Da un lato il rapido raggiungimento di basse umidità diminuisce l'accumulo di fumonisine prodotte da *F. verticillioides*, dall'altro si evita che la coltura resti in campo nel momento in cui cominciano ad abbassarsi le temperature e ad aumentare la possibilità di precipitazioni. Queste condizioni climatiche da una parte favoriscono lo sviluppo di *F. graminearum*, produttore di deossivalenolo e zearalenone e dall'altra possono determinare perdite di granella.

Il successo della semina anticipata dipende anche dalle caratteristiche varietali dell'**ibrido** seminato, in particolare dalla sua **resistenza ai ritorni di freddo**, possibili quando si semina a marzo, e dal vigore di partenza della pianta. Nella scelta dell'ibrido è necessario dare precedenza alle varietà che offrono le migliori garanzie dal punto di vista qualitativo, con particolare riferimento alla tolleranza agli attacchi fungini e alla migliore resistenza agli stress idrici. L'impiego di ibridi con spighe coperte da brattee poco spesse e che non coprono completamente la spiga fino

alla raccolta è da considerare un fattore favorevole allo sviluppo di infezioni fungine.

Epoca di semina

Le **semine tardive** (indicativamente dalla terza decade di aprile) sono quelle esposte ad un maggiore rischio di contaminazione da fumonisine, in particolare modo per quel che riguarda gli ibridi a ciclo pieno (Classe FAO 600-700). Per questo motivo sarebbe opportuno effettuare la semina in maniera tempestiva, cioè non appena si presentano buone condizioni agronomiche e climatiche (temperatura del terreno di almeno 10 °C da alcuni giorni), oppure utilizzare ibridi precoci o medio precoci per raggiungere livelli produttivi simili a quelli delle varietà più tardive, ma accorciando il ciclo e raccogliendo la granella prima del periodo delle piogge autunnali.

Densità di semina

È importante scegliere il giusto investimento perchè **densità elevate** in ambienti fertili e in prima epoca di semina (8 piante/m² per ibridi a ciclo pieno) possono aumentare il rischio di stress idrico delle piante e comportare condizioni microclimatiche favorevoli allo sviluppo di funghi tossigeni. Si consiglia quindi di ridurre gli investimenti e di non superare le 5,5 piante/m² per ibridi medio tardivi e le 6 piante/m² per ibridi medioprecoci.

Concimazioni

Una corretta gestione della nutrizione minerale della coltura è importante per evitare **stress nutrizionali** (carenze ed eccessi) che possono favorire elevati tenori di micotossine. In condizioni di carenza azotata si può verificare contaminazione da fumonisine ed aflatossine, mentre in condizioni di eccesso può presentarsi un ritardo nella maturazione e lo sviluppo di muffe sulla spiga e sulla pianta. Di fondamentale importanza risulta l'impostazione di un bilancio dei nutrienti calcolato sulla base dei fabbisogni della coltura, della dotazione del terreno e di altri importanti parametri agronomici.

Irrigazione

L'irrigazione nel mais risulta essere uno degli strumenti agronomici più importanti per il controllo della contaminazione da micotossine più comuni. Condizione ad alto rischio di infezioni in campo da *Aspergillus* spp. è lo **stress idrico** successivo alla maturazione cerosa della granella. I trattamenti irrigui andrebbero effettuati in maniera corretta non solo nel periodo immediatamente antecedente la fioritura maschile, ma anche nella fase più avanzata della coltura (maturazione latte), qualora le condizioni di umidità del terreno fossero insufficienti ad assecondare la richiesta idrica della pianta.

*Lotta ad *Ostrinia nubilalis**

La **piralide del mais** (*Ostrinia nubilalis*) è l'insetto in assoluto più dannoso per questa coltura. L'insetto può attaccare diverse parti della pianta, quali le foglie, il fusto e ovviamente anche la

spiga. Per penetrare all'interno della spiga può utilizzare numerose vie d'accesso, ma le due principali sono sicuramente la zona di congiunzione tra la spiga e lo stocco e la sommità della spiga stessa.

Il danno che determina alla granella non è sempre visibile, in quanto può creare delle gallerie al di sotto della superficie della cariosside, andando a nutrirsi in primo luogo del germe. Le larve della piralide possono costituire un vettore molto importante per la disseminazione all'interno della pianta di funghi quali *Aspergillus* spp. e *Fusarium* spp.. Questo avviene perché i funghi che si localizzano sulla superficie delle cariossidi o sulle setole possono sfruttare la via di penetrazione dell'insetto per accedere all'interno della spiga. Anche gli **escrementi** delle larve possono costituire un'importante fonte di **inoculo** dal momento che possono essere colonizzati da una vasta gamma di funghi tossigeni e possono quindi costituire il punto di partenza per la crescita della biomassa fungina all'interno della pianta.

Nelle aree maidicole con forte presenza di *Ostrinia nubilalis* la lotta contro questo fitofago diventa fondamentale per prevenire la contaminazione da micotossine. In particolare, i trattamenti vanno effettuati esclusivamente sulla **seconda e terza generazione**, vista l'evidenza che, in queste situazioni, un'efficace difesa dalla piralide permette una consistente riduzione dei tenori di contaminazione da fumonisine.

Raccolta

Nel corso della raccolta sarebbe opportuno adottare adeguati accorgimenti al fine di evitare **lesioni alla granella**. La permanenza in campo in condizioni climatiche non idonee può causare un rapido deterioramento della qualità del prodotto, con forti incrementi di FB1, in particolar modo per gli ibridi tardivi (Classe 600). Dovrebbe quindi essere preferita la **raccolta anticipata**, possibilmente entro settembre o appena si raggiunge un'umidità della granella pari al 27%. Il prodotto raccolto dovrebbe inoltre essere immediatamente consegnato al centro di raccolta in modo da essere **tempestivamente essiccato** (meglio se entro le 48h) per evitare che si creino le condizioni favorevoli allo sviluppo fungino.

Post-raccolta

La crescita di funghi micotossigeni può avvenire durante l'**immagazzinamento** in seguito alle variazioni di umidità della granella o alla formazione di **condensa** lungo le pareti dei silos: il controllo dell'aerazione e dell'umidità interna è molto importante per contenere lo sviluppo fungino. Anche il controllo della **temperatura di stoccaggio** (inferiore a 10-12° C), l'impiego di strutture che permettano la protezione dalla **pioggia**, dagli **uccelli** e dai **roditori** sono fattori da tenere in considerazione al fine di contenere la proliferazione fungina (Kabak et al., 2006).

GESTIONE DEGLI ALIMENTI CONTAMINATI E CONSIDERAZIONI GENERALI

Nel caso di materie prime contaminate le azioni possibili, per prevenire o contenere le tossicosi negli animali, il pericolo di contaminazione dei prodotti derivati e l'eliminazione dell'intera partita, sono la **diluizione** e l'aggiunta di **sostanze sequestranti** nella razione.

La diluizione, che prevede come passaggio iniziale consigliato l'analisi di entrambi gli alimenti (quello contaminato e quello con cui si intende diluire), può essere applicata alla materia prima contaminata (diluizione diretta) e alla razione completa (diluizione indiretta).

Nel primo caso verrà calcolando il **fattore di diluizione** sulla base della contaminazione rilevata (Ci) e di quella finale desiderata (Cf) attraverso la formula:

$$\text{Fattore di diluizione \%} = (Cf/Ci)*100$$

*es.: se il livello di contaminazione della materia prima è di 18 ppb e si desidera abbassare la contaminazione a 15 ppb l'operazione da eseguire sarà $(15 \text{ ppb}/18 \text{ ppb}) * 100 = 83 \%$. Ciò significa che dobbiamo eseguire una diluizione di 1:1,2 (18/15).*

*Nella pratica per ogni 100 kg di materia prima contaminata con 18ppb dovremo aggiungere 20 kg di materia prima non contaminata $[100 - (100 * 1,2)]$.*

Nel secondo caso l'alimento contaminato o parte di esso verrà sostituito con un alimento non contaminato.

Alcuni esempi pratici di diluizioni dirette e % di inclusione nella razione di materie prime per rispettare i criteri appena espressi sono illustrati in Figura 11. Gli esempi sono riferiti ad una contaminazione da AFB1 ma possono essere usati anche per le altre micotossine, modificando le contaminazioni iniziali e i limiti legislativi.

Un'altra strategia per prevenire o trattare un'intossicazione da micotossine attraverso gli alimenti è l'uso di **additivi** quali **chelanti** o **adsorbenti**, che hanno lo scopo di limitare l'assorbimento delle tossine nel tratto gastrointestinale favorendone quindi l'eliminazione per via fecale.

L'efficacia di questa strategia dipende principalmente da:

- selettività dell'additivo nei confronti di una sola o di più micotossine
- affinità della sostanza a basse concentrazioni della tossina
- capacità dell'additivo di legare o adsorbire grandi quantità di tossina prima che essa sia assorbita dall'organismo
- volumi di inclusione dell'additivo necessari a garantirne l'efficacia

- stabilità della sostanza nei confronti del pH, di modo che il complesso additivo-tossina sia stabile lungo tutto il tratto gastrointestinale e possa essere escreto con le feci

Tra i chelanti inorganici maggiormente utilizzati troviamo:

- le **bentoniti** (di calcio, di sodio) (Diaz et al., 1999)
- le **zeoliti** (Smith, 1980)
- gli **alluminosilicati** (es. HSCAS, hydrated sodium calcium aluminosilicates) (Diaz et al., 1999)
- le **argille** in genere

Tra gli adsorbenti organici i derivati della crescita dei lieviti (**glucomannani**) sembrano essere i più efficaci nei confronti dell'AFB1 e dello zearalenone (Diaz et al., 1999; www.knowmycotoxins.com).

In generale ci sono alcune "**BUONE PRATICHE**" operative oltre alla gestione degli alimenti, che possono essere utili per individuare, gestire e trattare una micotossicosi in azienda:

- 1. Se si sospetta una micotossicosi in allevamento è utile effettuare una prima valutazione in base ad eventuali casi precedenti**
- 2. In seguito all'attuazione di misure correttive è importante monitorare la risposta degli animali in termini di miglioramento della salute o delle produzioni, tenendo presente che nel caso di micotossicosi croniche il recupero può essere lento o anche non verificarsi**
- 3. Sarebbe necessario in caso di conferma di intossicazione riformulare la razione tenendo presente che a causa del metabolismo fungino gli alimenti contaminati subiscono una perdita di contenuto energetico del 5-10% e che l'efficienza alimentare degli animali diminuisce del 20-30%**
- 4. Va osservato comunque il livello di ingestione degli animali intossicati per individuare subito eventuali diminuzioni, in quanto gli alimenti contaminati sono generalmente meno appetibili.**
- 5. Oltre ai chelanti o agli adsorbenti nella razione sarebbe opportuno aumentare in misura del 10-15% l'integrazione di vitamine (A,E) e minerali (Se, Cu, Mn)**
- 6. Nei silos e nelle materie prime soggette a sviluppo di muffe può essere utile aggiungere un inibitore di crescita fungina quale propionato di sodio o calcio o acidi organici (acetico, propionico, sorbico, malico, lattico, citrico).**

Figura 11: Aspetti da considerare nelle diluizioni delle materie prime contaminate da aflatossine

