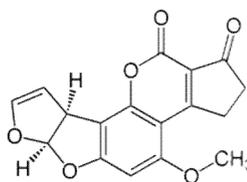
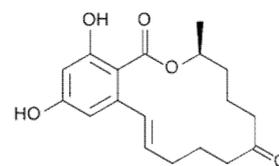
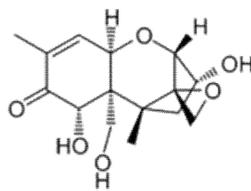




## Polo di Specializzazione Alimenti BARI

Rapporto Attività 2011-2014

# MICOTOSSINE NEGLI ALIMENTI: CONTROLLO UFFICIALE IN PUGLIA



Regione Puglia



**Agenzia Regionale per la Prevenzione e la Protezione dell'Ambiente  
Polo di Specializzazione Alimenti di Bari**

**RAPPORTO ATTIVITÀ 2011-2014  
MICOTOSSINE NEGLI ALIMENTI:  
CONTROLLO UFFICIALE IN PUGLIA**

**INDICE**

<b>1. INTRODUZIONE</b>	<b>Pag. 5</b>
1.1 MICOTOSSINE	Pag. 5
1.2 QUADRO NORMATIVO	Pag. 14
<b>2. METODI DI ANALISI</b>	<b>Pag. 17</b>
<b>3. RISULTATI DEL MONITORAGGIO 2011-2014</b>	<b>Pag. 18</b>
3.1 CAMPIONI E DETERMINAZIONI EFFETTUATE	Pag. 18
3.2 POSITIVITÀ E NON CONFORMITÀ	Pag. 22
3.3 OCRATOSSINA A NEL VINO	Pag. 26
3.3 PRODOTTI DI IMPORTAZIONE	Pag. 28
<b>4. CONSIDERAZIONI FINALI</b>	<b>Pag. 32</b>
<b>5. BIBLIOGRAFIA</b>	<b>Pag. 33</b>

**Agenzia Regionale per la Prevenzione e la Protezione dell’Ambiente**  
**Polo di Specializzazione Alimenti di Bari**

**RAPPORTO ATTIVITÀ 2011-2014**  
**MICOTOSSINE NEGLI ALIMENTI:**  
**CONTROLLO UFFICIALE IN PUGLIA**

**Ferrieri F., Amenduni M.C., Barisonzo M., Corte G., Intini N., Leonetti E., Lo Greco F., Palma M., Pinto A., Rizzi F., Sabino N., Santoro T., Ventrella A., Fiume F., Blonda M., Assennato G.**

*ARPA Puglia, Corso Trieste 27, 70126, Bari*

Il Laboratorio Chimico del Polo di Specializzazione Alimenti ARPA Puglia di Bari conduce da diversi anni, su scala regionale, il monitoraggio sulla contaminazione da **micotossine** in diverse tipologie di alimenti di origine vegetale. Utilizzando metodi accreditati, vengono analizzati campioni prelevati dalle ASL nell’ambito di Piani regionali di controllo ufficiale predisposti dall’Assessorato alle Politiche della Salute della Regione Puglia, da USMAF nell’ambito del controllo sulle merci di importazione, dai Carabinieri del NAS e da altri Corpi di Polizia nell’ambito di particolari attività di controllo nel settore agroalimentare.

La tematica è di rilevante importanza dal momento che le micotossine possono essere annoverate tra i contaminanti alimentari più pericolosi per la salute umana.

Il presente lavoro riporta i risultati relativi al controllo delle micotossine condotto nel quadriennio 2011-2014 su **660 campioni** comprendenti: vini ed altre bevande alcoliche, cereali e loro derivati, frutta secca e a guscio, erbe, spezie, caffè, nonché alimenti per lattanti. Sono state ricercate le seguenti micotossine: Aflatossine (AFLA) B1, B2, G1, G2, Ocratossina A (OTA), Deossinivalenolo (DON) e Zearalenone (ZEA). Oltre il 30% dei campioni sono risultati positivi rispetto ad una o più micotossine e **solo 5 campioni sono risultati non conformi**. Con il termine “*campioni positivi*” si indicano quei campioni naturalmente contaminati e con livelli di micotossine tali da essere rilevati e quantificati con le tecniche

analitiche in uso. I metodi di analisi e la strumentazione attualmente utilizzata, permettono di raggiungere limiti di quantificazione (LOQ), abbondantemente al di sotto dei tenori massimi ammissibili. A seconda della combinazione matrice/micotossina, i LOQ variano in un intervallo che va da 1/5 del limite legale (ad es. per l'Aflatossina B1 nei cereali), fino a circa 1/30 (ad es. per il DON nei cereali). Con il termine "*campioni non conformi*", invece, si indicano quei campioni che superano il tenore massimo "oltre ogni ragionevole dubbio" e che rappresentano partite da rifiutare (Reg. CE 401/06 e Reg. CE 178/10). Per i prodotti non conformi vi è il divieto di: utilizzo come ingredienti alimentari; miscelazione con altri prodotti alimentari conformi ai tenori massimi; detossificazione mediante trattamenti chimici (art. 3 del Reg. CE 1881/06).

### **Activity Report 2011-2014 - Mycotoxins**

The Chemical Laboratory of the ARPA Puglia Food Specialization Centre of Bari has conducted monitoring activities on mycotoxin contamination for several years on various types of plant foods on regional scale. By using accredited methods, the laboratory has analyzed samples collected by ASL in the framework of official regional control Plans prepared by the Department for Health Policies of the Regione Puglia, by USMAF for monitoring the import goods, by NAS Carabinieri and by other police forces under particular control activities regarding the agrifood field. This topic is of great importance, since mycotoxins can be counted among the most dangerous food contaminants to human health. This report illustrates the results obtained in the framework of mycotoxin monitoring in the 2011-2014 period on 660 samples including: wines and other alcoholic drinks, cereals and their derivatives, dried and shell fruit, herbs, spices, coffee, as well as baby food. The following mycotoxins have been searched for: Aflatoxins (AFLA) B1, B2, G1, G2, Ochratoxin A (OTA), Deoxynivalenol (DON) and Zearalenone (ZEA). For more than 30% of the samples, the presence of one or more mycotoxins was found, but only for 5 samples exceedances were observed with respect to the maximum levels allowed by legislation. The term "*positive samples*" refers to naturally contaminated samples having levels of mycotoxins that can be detected and quantified by the analytical techniques in use. The analytical methods and instrumentation currently used can reach limits of quantification (LOQ) well below the legally permitted maximum levels. Depending on the food

matrix/mycotoxin combination, the LOQs vary in a range from 1/5 (eg. for Aflatoxin B1 in cereals), to about 1/30 (eg. for DON in cereals) of the legal limit. The term “*non-compliant samples*” describes samples exceeding the maximum permitted levels "beyond any reasonable doubt" and representing batches to refuse (EC Reg. 401/06 and EC Reg. 178/10). For non-compliant products it is forbidden: the use as food ingredients; the mixing with other foods which comply with the maximum levels; the detoxification by chemical treatments (art. 3 of the EC Reg. 1881/06).

## 1. INTRODUZIONE

### 1.1 MICOTOSSINE

E' noto che alcuni funghi filamentosi, e più specificamente alcune muffe tossigene, possono colonizzare foraggi e derrate alimentari e sono capaci di biosintetizzare, in particolari condizioni, molecole note come "micotossine". Tali sostanze rivestono un ruolo di notevole importanza a causa delle loro particolari proprietà tossicologiche che possono riguardare gli animali e l'uomo, qualora si utilizzino mangimi e alimenti contaminati.

Le "micotossine" costituiscono un gruppo di composti con strutture chimiche anche molto differenti tra loro, per lo più a basso peso molecolare, molto stabili e che pertanto possono permanere per periodi molto prolungati negli alimenti accentuandone la loro pericolosità. Ad oggi sono note più di 300 molecole diverse di micotossine, ma solo un numero molto ridotto di esse possiede una reale importanza tossicologica, e proprio su queste si sono concentrati studi e ricerche negli ultimi anni.

Tra le muffe reputate tossigene (appartenenti ai generi *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Alternaria* e *Claviceps*) esistono ceppi che producono micotossine e ceppi che non ne producono alcuna; pertanto, ai fini di limitare i rischi dei consumatori, non è rilevante identificare una muffa tossigena, quanto effettuare una ricerca analitica della presenza di micotossine.

A causa dell'enorme diversità strutturale osservabile fra le diverse tipologie di micotossine, anche la gamma degli effetti indesiderati indotti da questi metaboliti tossici è molto diversificata. Esse mostrano caratteristiche di tossicità acute e croniche, ed in particolare alcune di esse possono esercitare un'azione genotossica (in grado di danneggiare il DNA), cancerogena (sono capaci di provocare il cancro), mutagena (possono agire sui cromosomi alterandone l'informazione genetica) o teratogena (provocano anomalie del feto). In considerazione degli effetti tossici che sono in grado di produrre nei vari organi umani e animali esse possono essere anche classificate come epatotossine, nefrotossine, neurotossine, immunotossine e dermatossine.

In aggiunta a quanto detto, è importante sottolineare che l'Agenzia Internazionale per la Ricerca sul Cancro (IARC) ha indicato il potenziale cancerogeno di Aflatossine, Ocratossina, Tricoteceni, Zearalenone e Fumonisine, procedendone all'inserimento nella lista delle sostanze cancerogene, a seguito di studi mirati.

La problematicità di queste sostanze è dovuta alla loro elevata resistenza al calore: esse non vengono completamente distrutte dalle normali operazioni di cottura, né dai diversi trattamenti a cui vengono normalmente sottoposte le derrate durante i processi di preparazione degli alimenti. Pertanto, le stesse micotossine o i loro derivati ancora attivi possono persistere dopo la morte del micete ed essere presenti anche quando il prodotto stesso non appare ammuffito. In altri termini, la presenza di funghi tossigeni in un alimento non indica automaticamente la presenza di micotossine e d'altra parte l'assenza di funghi non implica automaticamente assenza di micotossine.

Le contaminazioni da micotossine sono caratterizzate da una distribuzione molto eterogenea sulla derrata colpita: si parla comunemente di contaminazione “*a macchia di leopardo*”. Essa si può verificare sia nella fase pre-raccolta (contaminazione da campo) sia nella fase post-raccolta durante i processi di conservazione, trasformazione e trasporto, e può riguardare una svariata gamma di derrate alimentari di origine vegetale, quali cereali e derivati, semi oleaginosi, frutta (uva, mele), spezie, olive, caffè, vino, birra, frutta secca ed essiccata (fichi, arachidi, pistacchi), oli di semi, ed anche di origine animale quali latte, formaggi e insaccati.

Lo sviluppo delle muffe può essere fortemente influenzato da fattori chimici, fisici e ambientali: hanno grande importanza le condizioni climatiche e geografiche, le pratiche di coltivazione e di conservazione, nonché il tipo di substrato interessato (alcuni prodotti sono più facilmente contaminabili).

Più in dettaglio, elevate escursioni termiche nel periodo di maturazione delle piante, forti precipitazioni al momento della raccolta, presenza di parassiti, stress idrici delle piante parassitate, errate lavorazioni ed errori durante lo stoccaggio, la conservazione e la miscelazione sono tra i principali fattori che favoriscono la proliferazione fungina e la produzione di micotossine. E' utile sapere che la formazione di muffe e micotossine può avvenire anche nella conservazione casalinga, in frigo o a temperatura ambiente.

Si parla di “*contaminazione diretta*” quando la presenza di micotossine in un alimento deriva dalla colonizzazione diretta della derrata alimentare da parte dei parassiti, ed è il classico caso che riguarda le contaminazioni di alimenti di origine vegetale. Negli alimenti di origine animale, invece, si può riscontrare la presenza di micotossine o loro metaboliti come effetto del cosiddetto “*carry over*”, fenomeno per il quale l'animale assume ed introduce nel proprio metabolismo micotossine se alimentato con mangimi contaminati; in questo caso si parla di “*contaminazione indiretta*”. A proposito dei mangimi, un aspetto critico è rappresentato dal

fatto che nelle relative formulazioni gli ingredienti di base sono di solito costituiti dalle parti esterne dei cereali, che sono spesso quelle maggiormente contaminate.

Per avere un'idea della portata della problematica micotossine, si può considerare che già dal 1985 la FAO (Food and Agriculture Organization) stimava che nel mondo circa il 25% delle derrate alimentari erano contaminate da micotossine. A causa dell'elevata tossicità di alcune di esse, le autorità competenti di molti paesi annoverano le contaminazioni da micotossine tra le principali priorità in tema di sicurezza alimentare.

Esse risultano, insieme ai residui di fitofarmaci, i contaminanti chimici più frequentemente notificati attraverso il RASFF (Rapid Alert System for Food and Feed), il sistema in vigore all'interno della Comunità Europea a cui partecipano la Commissione Europea, l'EFSA (Autorità Europea per la Sicurezza Alimentare) e gli Stati membri dell'Unione e che ha come base legale il *Reg. CE 178/2002* che stabilisce i principi e i requisiti generali della legislazione alimentare ed individua la procedura da seguire per ottenere una sempre maggiore sicurezza alimentare. Il RASFF notifica sia le allerta (*alert notifications*) che riguardano gli alimenti già presenti sul mercato per i quali è necessario intraprendere azioni immediate, sia le semplici informazioni (*information notifications*), pubblicate settimanalmente dalla Commissione Europea, che riguardano invece gli alimenti che non hanno ancora raggiunto i mercati o sono già sottoposti a misure di controllo. In caso di allerta, i paesi produttori, distributori o che smerciano i prodotti allertati vengono tempestivamente informati dalla Comunità Europea.

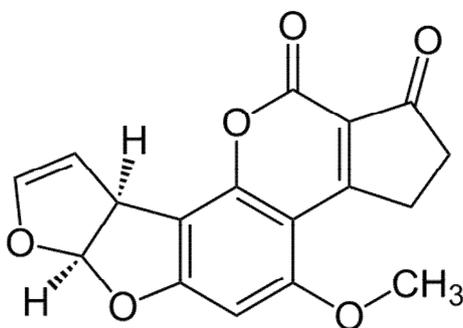
A livello produttivo, esistono alcune strategie che permettono di eliminare o ridurre le micotossine negli alimenti e nei mangimi: metodi di natura fisica (come l'irraggiamento solare e con microonde), metodi di natura chimica (come il trattamento con bisolfito o l'uso di ammoniaca, vietati in Europa), e metodi di natura biologica (come l'uso di microrganismi antagonisti). Tuttavia questi trattamenti non vengono eseguiti su larga scala, o perché economicamente improponibili o perché non ancora studiati a sufficienza.

Non sono invece molti i processi tecnologici di lavorazione degli alimenti in grado di ridurre le tossine eventualmente presenti nella materia prima. Fra questi si possono ricordare la raffinazione degli oli, la tostatura spinta del caffè (come quella in uso in Italia) e la molitura dei cereali, che porta ad un impoverimento di micotossine nelle frazioni più interne del chicco e alla concentrazione nelle parti più esterne (crusca) in quanto le micotossine risultano in genere più concentrate nella parte esterna dei chicchi.

Di seguito vengono brevemente riportate alcune rapide informazioni riguardanti quelle micotossine che, per i loro effetti, sono oggetto di una particolare attenzione da parte della Comunità Scientifica e delle Autorità governative e sanitarie.

Le **Aflatossine** furono isolate ed identificate come la causa della “Malattia X del Tacchino” (Turkey X disease), un caso di necrosi epatica che colpì un elevatissimo numero di tacchini in Inghilterra all’inizio degli anni '60 e che rese note le micotossine a livello mondiale. Le quattro principali aflatossine, note con i nomi **B1**, **B2**, **G1** e **G2**, sono le più pericolose per la salute umana e per questo sono le micotossine maggiormente studiate. I loro nomi derivano dal fatto che, quando eccitate con luce ultravioletta, sono in grado di emettere fluorescenza rispettivamente nel blu (Blue) e nel verde (Green). Sono prodotte dalle specie *Aspergillus Flavus* (B1, B2) e *Aspergillus parasiticus* (B1, B2, G1 e G2) e rappresentano agenti di contaminazione di frutta secca ed essiccata, frutta a guscio, semi oleaginosi, cereali, spezie e prodotti derivati.

Da un punto di vista chimico, le AFLA sono tutte costituite da una struttura diidrofuranica o tetraidrofuranica condensata con un anello cumarinico, sebbene si contino oltre 20 derivati aflatossinici prodotti dal metabolismo fungino.



**Fig.1.1** Struttura chimica dell'AFLA B1.

Il prodotto di idrossilazione metabolica della B1 è l'**AFLA M1** che può essere rintracciata nel latte e nei prodotti caseari provenienti da animali che hanno consumato alimenti contaminati da AFLA B1.

Di norma le contaminazioni degli alimenti da aflatossine si verificano principalmente nelle zone a climi caldi e umidi.

Le aflatossine sono associate in generale a tossicità e a cancerogenicità per l'uomo e per gli animali: aflatossicosi acute possono in taluni casi portare anche alla morte, mentre aflatossicosi croniche possono portare a formazione di cancro, ad immunosoppressione e ad

altri effetti; il fegato è l'organo bersaglio primario, come dimostrano numerosi studi su animali, che però mostrano suscettibilità anche molto variabili a seconda delle specie. Per quanto riguarda l'uomo, è noto che storicamente si sono riscontrati meno casi di tossicità acuta, mentre si ritrovano informazioni e dati più schiacciati sulle implicazioni delle aflatossine come cancerogeni. La B1 è classificata dallo IARC come accertato cancerogeno per l'uomo (Gruppo 1).

Una importante informazione è che, l'incidenza del cancro al fegato è da 2 a 10 volte più frequente nei paesi sottosviluppati, nei quali le tecnologie produttive, le misure a tutela dei consumatori ed i controlli sulle merci, sono di gran lunga più limitati.

Vista la loro elevata tossicità, per le AFLA si sono fissati i relativi tenori massimi negli alimenti al livello più basso ragionevolmente ottenibile (principio ALARA – *as low as reasonably achievable*): il legislatore ha ritenuto opportuno fissare i limiti in diverse tipologie di alimenti per il contenuto complessivo di AFLA (somma delle B1, B2, G1 e G2) e per quello della sola AFLA B1 che è di gran lunga la più tossica (genotossica, immunosoppressore ed epatotossica); ha inoltre fissato limiti per l'AFLA M1 nel latte e negli alimenti destinati a lattanti e bambini. La M1 è classificata dallo IARC come un possibile cancerogeno per l'uomo (Gruppo 2B): questa categoria viene utilizzata per agenti per i quali c'è limitata evidenza di cancerogenicità nell'uomo e meno che sufficiente evidenza di cancerogenicità negli animali da esperimento; può anche essere usata quando c'è inadeguata evidenza di cancerogenicità nell'uomo ma c'è sufficiente evidenza di cancerogenicità negli animali da esperimento.

Le **Ocratossine** vengono biosintetizzate da funghi dei generi *Aspergillus* e *Penicillium* che sono ubiquitari e rappresentano agenti di ammuffimento di diverse matrici alimentari; fra queste micotossine l'**OTA**, scoperta nel 1965, è quella maggiormente tossica.

Chimicamente sono dei derivati della 3,4-diidrometilisocumarina collegati attraverso un legame ammidico al gruppo amminico della L- $\beta$ -fenilalanina.

Gli alimenti più esposti alla contaminazione da OTA sono cereali (grano, orzo, mais, avena), derivati dei cereali, frutta, frutta secca, caffè, cacao, spezie, liquirizia, vino, birra. Si rinviene anche nei prodotti di origine animale perché trasferita attraverso i mangimi, ed è perfino rintracciabile nel sangue umano.

I reni sembrano essere l'organo bersaglio principale per l'OTA, la quale è nota per i suoi effetti nefrotossici documentati su numerose specie animali. Studi su cavie animali hanno anche messo in evidenza proprietà immunosoppressive, teratogene e cancerogene.

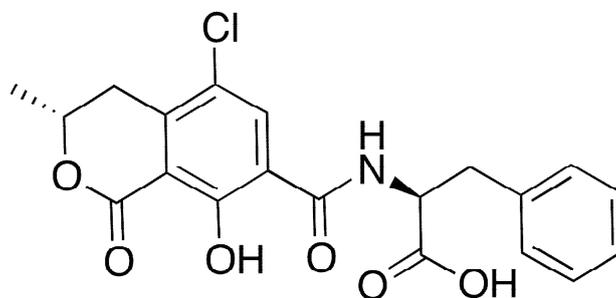


Fig.1.2 Struttura chimica dell'OTA.

Dagli studi, l'OTA sembra poter disturbare la fisiologia cellulare in vari modi, ma principalmente sembra che gli effetti primari si manifestino sugli enzimi coinvolti nel metabolismo della fenilalanina; inoltre l'OTA sembra inibire la produzione mitocondriale di ATP e stimolare la perossidazione lipidica.

Per quanto riguarda gli effetti negativi dell'OTA sulla salute umana, lo IARC l'ha classificata come un possibile cancerogeno per l'uomo (Gruppo 2B), basandosi sulle attuali informazioni ed evidenze disponibili.

Lo **ZEA** è una micotossina prodotta da miceti del genere *Fusarium* che si può trovare nei cereali ed in particolare nel mais. Chimicamente si tratta di un lattone dell'acido resorcilico fenolico. I ceppi tossigeni iniziano la loro attività in campo e possono proseguirla anche nei silos.

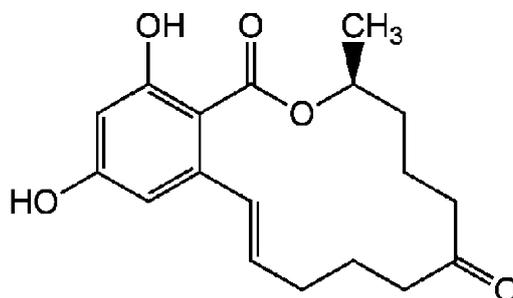


Fig.1.3 Struttura chimica dello ZEA.

Lo ZEA possiede spiccati effetti estrogenici che possono determinare alterazioni nei cicli riproduttivi degli animali, ipofertilità e fenomeni di pubertà precoce. Lo IARC ha classificato

lo ZEA nel Gruppo 3, cioè tra quelle sostanze non classificabili in relazione alla loro cancerogenicità per l'uomo: questa categoria viene usata di solito per agenti per i quali l'evidenza di cancerogenicità è inadeguata nell'uomo e inadeguata o limitata nell'animale da esperimento; eccezionalmente, possono essere collocati in questo gruppo agenti per i quali l'evidenza nell'uomo è inadeguata ma l'evidenza nell'animale è sufficiente e, tuttavia, vi è forte evidenza che i meccanismi di cancerogenicità nell'animale non siano operativi nell'uomo.

I **Tricoteceni**, tra cui le tossine **T-2**, **HT-2**, **DON** e **Nivalenolo**, sono un gruppo costituito da almeno 70 metaboliti, contenenti anelli sesquiterpenici caratterizzati da uno scheletro 12,13-epossitricotecenico collegato tramite un legame olefinico con diversi sostituenti, che possono essere prodotti da diversi generi fungini.

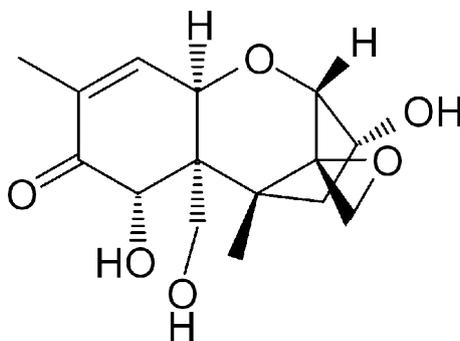


Fig.1.4 Struttura chimica del DON.

Il nome di questa famiglia di tossine deriva dalla tricotecina, il primo membro ad esserne stato identificato. I più importanti da un punto di vista tossicologico sono i tricoteceni sintetizzati da *Fusarium*: tali funghi sono tipici di climi nordici e crescono soprattutto in campo ma, in condizioni di umidità superiori al 20-22%, le tossine possono essere prodotte anche dopo la raccolta, durante lo stoccaggio. I prodotti maggiormente contaminati da tricoteceni sono frumento, orzo, avena, segale, mais e prodotti da essi derivati.

Possono inibire la sintesi proteica negli eucarioti (sembra che il gruppo epossidico in posizione 12, 13 sia fondamentale in tal senso) ed hanno effetti immunosoppressori, dermatotossici ed emorragici. Tra essi la tossina più studiata è il DON, che seppur dotato della minore tossicità acuta, è riscontrabile negli alimenti in modo più diffuso. Se assunto in dosi considerevoli, negli animali testati può provocare nausea, vomito, disordini gastrointestinali e cefalea, e per tali ragioni è stato anche definito “vomitossina” o “fattore di rifiuto del cibo”. Lo IARC ha classificato il DON nel Gruppo 3.



metabolismo degli sfingolipidi; possono causare diversi effetti tossici, documentati in differenti specie animali, come ad esempio l'edema polmonare in suini, o effetti epatotossici e cancerogeni ed apoptosi nel fegato di ratti. Nell'uomo esistono alcuni dati che collegherebbero l'assunzione di tali tossine con il cancro all'esofago. Tali micotossine si possono ritrovare in particolar modo nel mais e nella farina di mais. Sono collocate dallo IARC nel Gruppo 2B.

La **Citrinina** è una micotossina prodotta da funghi *Aspergillus*, *Penicillium* e *Monascus*, che si presenta come un derivato fenolico. Il suo nome deriva dal fatto che inizialmente fu isolata in un riso contaminato da *Penicillium citrinum*.

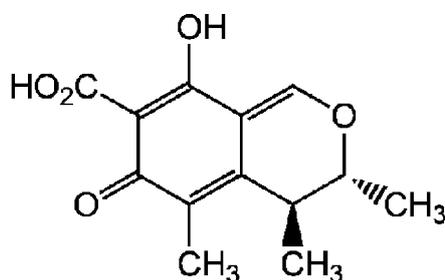


Fig.1.7 Struttura chimica della citrinina.

E' una tossina di grande attualità, dal momento che recentemente è stato introdotto dalla Comunità Europea un tenore massimo per la citrinina negli integratori alimentari a base di riso fermentato con lievito rosso *Monascus purpureus*; tali integratori sono stati molto impiegati in tempi recenti allo scopo di ridurre i livelli di colesterolo nel sangue. La citrinina si può ritrovare in cereali come frumento, orzo, segale, avena, mais e riso e mostra effetti nefrotossici simili a quelli causati dall'OTA.

Alcune specie di *Acremonium* e la *Claviceps purpurea* sono anche responsabili di micotossicosi nei ruminanti, risultante dalla presenza di alcaloidi della segale cornuta (ad esempio **ergotamina** ed **ergocristina**) prodotti da queste specie fungine. Gli **alcaloidi dell'ergot** sono tutti strutturalmente correlati alla droga allucinogena conosciuta come dietilammide dell'acido lisergico (LSD), isolata per la prima volta nel 1934. Questi composti sono prodotti come un cocktail tossico di alcaloidi tipicamente negli sclerozi delle specie della *Claviceps*, che sono comuni patogeni di varie specie erbacee.

L'ingestione di tali sclerozi è stata associata fin dall'antichità a varie malattie, documentate in vario modo. In particolare, la malattia derivante dal consumo di grano, farina o prodotti da forno contaminati da tali alcaloidi è detta ergotismo o "Fuoco di S. Antonio". I due tipi di

ergotismo noti nell'uomo e negli animali sono uno di tipo cancrenoso, che attacca il sistema sanguigno nelle zone periferiche, e l'altro associato a convulsioni e che attacca il sistema nervoso centrale.

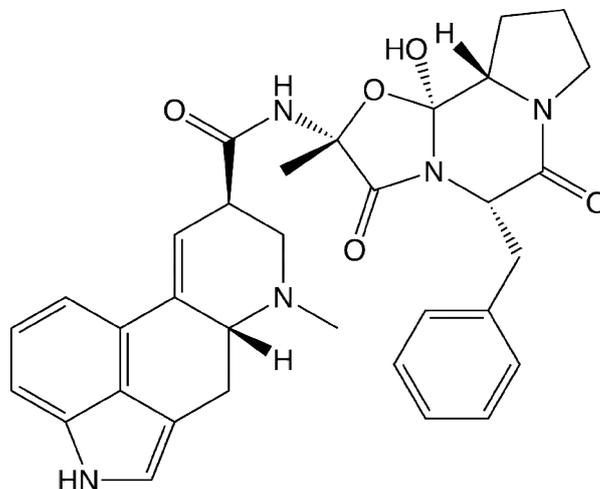


Fig.1.8 Struttura chimica dell'ergotamina.

## 1.2 QUADRO NORMATIVO

La normativa relativa alle micotossine risulta molto complessa ed in continua evoluzione e va di pari passo con gli studi condotti da comitati scientifici e valutazioni e pareri adottati da autorità competenti.

La prima normativa europea sui limiti delle micotossine fu emanata con il *Reg. CE 1525/98*, in ritardo rispetto alle ricerche sperimentali. Tale Regolamento non era però completo: ad esempio non venivano riportati i limiti per l'OTA in uva e prodotti derivati, per cui in Italia, una delle nazioni più attente al problema "micotossine", il Ministero della Sanità intervenne con la *Circolare n.10 del 09/06/1999* sopperendo parzialmente all'incompletezza del suddetto Regolamento e tale normativa italiana fu adottata nel 2001 dall'UE.

Progressivamente l'UE emanava nuovi Regolamenti (*Reg. CE 466/01* modificato poi dal *Reg. CE 123/05*) con pacchetti di limiti massimi ammissibili sempre più completi in molti alimenti e per le principali micotossine.

Attualmente il panorama legislativo è abbastanza completo ed in Italia alcune disposizioni esistenti a livello nazionale sono state aggiornate al fine di eliminare le disarmonie. Infatti la

*Circolare del Ministero del Lavoro, della Salute e delle Politiche sociali del 10/12/2009*, in seguito ad una specifica valutazione dell'Istituto Superiore di Sanità circa l'esposizione all'OTA che indicava che non sussistono rischi per la salute del consumatore italiano derivanti dal consumo di cacao e di prodotti derivati, ha abrogato i tenori massimi di OTA in cacao e derivati, non previsti dalla normativa comunitaria, ma fissati in Italia dalla *Circolare del Ministero della Salute n. 6 del 28/11/2003*.

La normativa comunitaria vigente che definisce i tenori massimi di alcuni contaminanti nei prodotti alimentari è il **Reg. CE 1881/2006** del 19/12/2006. Oltre alle micotossine (normate nella Parte 2), tale Regolamento fissa i limiti per i seguenti contaminanti: nitrati (Parte 1), metalli (Parte 3), 3-monocloro-1,2-propandiolo (Parte 4), diossine e PCB (Parte 5) e benzo(a)pirene (Parte 6), melamina (parte 7), tossine vegetali naturali (parte 8).

Dalla sua emanazione ad oggi, il *Reg. 1881/06* ha subito numerose modifiche, delle quali le seguenti hanno riguardato le micotossine

- *Reg. CE 1126/07*: aggiornamento dei limiti per le *Fusarium* tossine nel granoturco e prodotti derivati
- *Reg. UE 105/2010*: introduzione del limite per l'OTA su spezie e liquirizia
- *Reg. UE 165/2010*: introduzione dei limiti per le aflatossine su semi oleosi e innalzamento dei limiti su mandorle, pistacchi, semi di albicocche, nocciole e noci del Brasile
- *Reg. UE 594/2012*: introduzione del tenore massimo per l'OTA sul glutine di frumento non venduto direttamente ai consumatori
- *Reg. UE 1058/2012*: introduzione dei tenori massimi per le aflatossine sui fichi secchi
- *Reg. UE 212/2014*: introduzione dei tenori massimi per la citrinina negli integratori a base di riso fermentato con lievito rosso *Monascus purpureus*
- *Reg. UE 1137/2015*: modifica dei tenori massimi per l'OTA in spezie
- *Reg. UE 1940/2015*: introduzione dei tenori massimi per sclerozi di *Claviceps spp.* in taluni cereali non trasformati

Per varie motivazioni, nel tempo risulta necessario rivedere e quindi modificare alcuni tenori massimi di micotossine in determinati prodotti alimentari: per tener conto degli sviluppi nel Codex Alimentarius, delle indicazioni di gruppi di esperti scientifici sui contaminanti nella catena alimentare (CONTAM) e dell'Autorità europea per la sicurezza alimentare (EFSA), e alla luce di nuove informazioni contenute nei recenti pareri di comitati scientifici (SCF).

Inoltre, in seguito a nuove prassi di produzione, non sempre è possibile mantenere i tenori di alcuni contaminanti ad un livello tanto basso quanto richiesto dalla normativa in vigore.

**I limiti di legge fissati dalla normativa europea sono, comunque, del tutto precauzionali in quanto i livelli di tossicità effettivi sono di gran lunga superiori.** Particolarmente restrittivi sono, ovviamente, i limiti di legge per prodotti destinati a gruppi vulnerabili di persone quali i baby food e gli alimenti dietetici.

Anche le metodiche riguardanti il campionamento sono state armonizzate a livello comunitario. Il prelievo dei campioni, infatti, svolge un ruolo molto importante nell'accuratezza della determinazione dei tenori di micotossine in quanto esse sono analiti con la caratteristica di distribuirsi in modo eterogeneo in una partita. La normativa vigente relativa ai metodi di campionamento e di analisi per il controllo ufficiale dei tenori di micotossine nei prodotti alimentari è il **Reg. CE 401/2006** del 23/02/2006. Tale Regolamento riporta anche i criteri per esprimere la conformità di un campione e dunque per accettare o rifiutare una partita. E' un testo unico che ha abrogato tutte le precedenti Direttive, ciascuna delle quali riguardava una singola micotossina. Ha subito due modifiche: il **Reg. UE 178/2010**, relativamente alla Parte riguardante le arachidi, gli altri semi oleosi, la frutta a guscio, le mandorle di albicocche (o noccioli di albicocche), la liquirizia e l'olio vegetale; il **Reg. UE 519/2014** che riguarda i metodi di campionamento per le grandi partite, per le spezie e gli integratori alimentari, i criteri di rendimento per le tossine T-2 e HT-2 e per la citrinina, nonché i metodi di analisi di screening.

Nei suddetti regolamenti vengono riportate, per ciascuna matrice, le disposizioni relative al campionamento di prodotti commercializzati sfusi, in contenitori, in imballaggi singoli (sacchi, confezioni al dettaglio, ecc.). Nelle tabelle riepilogative, in corrispondenza del peso della partita, è indicato il numero dei campioni elementari da prelevare per formare il *campione globale* che, successivamente, deve essere completamente omogeneizzato prima dell'avvio delle determinazioni analitiche.

## 2. METODI DI ANALISI

Il laboratorio chimico del Polo di Specializzazione Alimenti di Bari opera con un sistema di gestione della qualità conforme alla norma UNI CEI EN ISO/IEC 17025 ed è accreditato con marchio ACCREDIA. Le determinazioni delle micotossine nelle varie matrici vengono effettuate utilizzando i seguenti metodi:

- UNI EN 14133:2009 per l'OTA nel vino e nella birra
- UNI EN 14132:2009 per l'OTA nel caffè, con estensione per cereali e derivati
- UNI EN 16050:2011 per l'AFLA B1 e per la somma di AFLA B1, B2, G1, G2 nei cereali
- UNI EN 14123:2008 per l'AFLA B1 e per la somma di AFLA B1, B2, G1, G2 in frutta secca, frutta a guscio e spezie
- UNI EN 15891:2010 per il DON nei cereali e derivati e nei baby food
- UNI EN 15850:2010 per lo ZEA nei cereali e derivati e nei baby food

Essi prevedono una fase di preparazione del campione, una fase di estrazione, la purificazione con colonnine di immunoaffinità (IAC) e l'analisi strumentale con cromatografia liquida ad alta risoluzione (HPLC) a fasi inverse e rivelazione fluorimetrica o spettrofotometrica (DON). Tali metodi, validati ed accreditati, soddisfano le prescrizioni generali relative ai criteri previsti dal *Regolamento CE 882/2004 (All. III)*, nonché le prescrizioni specifiche stabilite dal *Reg. CE 401/2006 - punto 4.3.1 dell'All. II*, riguardanti il rispetto dei criteri di rendimento del metodo analitico ( $RSD_r\%$ ,  $RSD_R\%$  e recupero).

La validazione è stata condotta su campioni sia fortificati che naturalmente contaminati ed è stata verificata la compatibilità con i dati di precisione riportati nelle suddette norme. Il laboratorio partecipa regolarmente a circuiti interlaboratoriali per tutte le combinazioni matrice/micotossina.

Il risultato analitico per ciascun campione viene riportato in forma corretta per il recupero ed associato all'incertezza estesa di misura, così come previsto dal *Reg. CE 401/2006 (punto 4.4 dell'All. II)*. L'incertezza estesa, indispensabile ai fini della valutazione di conformità del dato analitico rispetto ai limiti fissati dal *Reg. CE 1881/2006*, viene ottenuta moltiplicando per un fattore di copertura pari a 2 il valore dell'incertezza composta, che viene calcolata utilizzando l'approccio di Horwitz o l'approccio di Horwitz modificato (Thompson), avendo il laboratorio verificato, in sede di validazione, che il rapporto di HORRAT rientra nella "fascia di Horwitz".

### 3. RISULTATI DEL MONITORAGGIO 2011-2014

#### 3.1 CAMPIONI E DETERMINAZIONI EFFETTUATE

Nel quadriennio monitorato (2011-2014) sono stati analizzati in totale **660 campioni** di cui il 78% è stato prelevato nel territorio regionale pugliese nell'ambito dei controlli ufficiali (il 66% da parte del personale ASL e il 12% da parte dei Carabinieri del NAS), mentre il 22% è stato campionato nell'ambito dei controlli sulle merci di importazione dal personale USMAF. I campioni analizzati sono rappresentati da: vini, mosti, birre, cereali (grano tenero e duro) e prodotti derivati dai cereali (pasta, prodotti da forno, di pasticceria e biscotteria, prodotti della macinazione), erbe, spezie, caffè, frutta a guscio (mandorle, nocciole, noccioli di albicocca, noci, pistacchi), frutta secca (fichi secchi), alimenti per lattanti e di proseguimento (indicati come "baby food"). Sono state effettuate **2121 determinazioni**, riscontrate **202 positività** e **5 non conformità**.

In tabella 3.1 è riportato il numero dei campioni analizzati suddivisi in base alla categoria di appartenenza e, per ciascuna di essa, sono indicati la percentuale, il numero di campioni positivi, la percentuale di positività (calcolata nell'ambito della specifica tipologia alimentare) ed il numero di non conformità.

Alimento	Campioni analizzati	% Campioni analizzati	Campioni positivi	% campioni positivi	Non conformità
Vini e mosti	321	48,6%	127	39,6%	-
Frutta secca e a guscio	130	19,7%	14	10,8%	5
Cereali e derivati	127	19,2%	48	37,8%	-
Birre	53	8,0%	2	3,8%	-
Spezie e caffè	25	3,8%	8	32,0%	-
Baby food	4	0,6%	3	75,0%	-
<b>Totale</b>	<b>660</b>	<b>100%</b>	<b>202</b>	<b>30,6%</b>	<b>5</b>

**Tabella 3.1** Anno 2011-2014: totale dei campioni analizzati e distribuzione percentuale; campioni positivi e distribuzione percentuale; campioni non conformi. Il trattino indica un valore pari a zero campioni.

La rilevante percentuale dei campioni di vino predisposti dal Piano Regionale di controllo ufficiale, evidenzia la grande attenzione rivolta verso questa matrice alimentare di notevole importanza socio-economica per il territorio pugliese.

La tabella 3.2 mostra le determinazioni complessivamente effettuate (2121), che hanno riguardato la ricerca di: AFLA (B1, B2, G1, G2), OTA, DON e ZEA, e la loro distribuzione per ciascuna matrice.

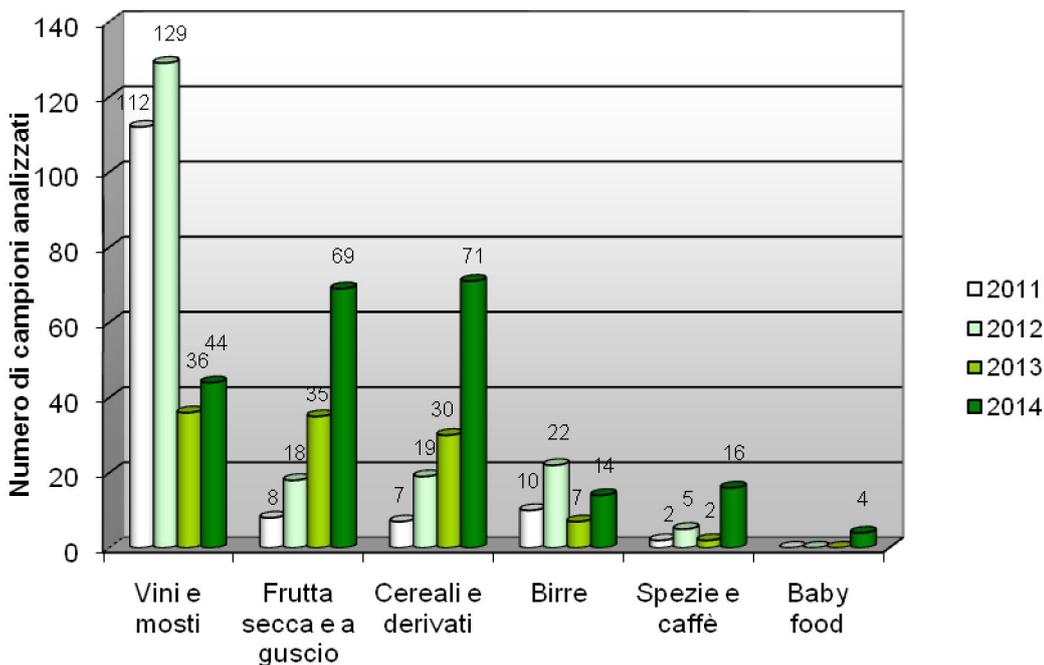
Alimento	Numero di determinazioni			
	OTA	AFLA	DON	ZEA
Vini e mosti	321	-	-	-
Frutta secca e a guscio	-	884	-	-
Cereali e derivati	115	492	92	92
Birre	53	-	-	-
Spezie e caffè	16	48	-	-
Baby food	-	-	4	4
<b>Totale</b>	<b>505</b>	<b>1424</b>	<b>96</b>	<b>96</b>

**Tabella 3.2** Analisi di micotossine effettuate presso il laboratorio chimico nel periodo 2011-2014; il trattino indica un valore pari a zero campioni. Per AFLA si intendono determinazioni di AFLA B1, B2, G1, G2.

Le AFLA sono state ricercate nei cereali e derivati, nella frutta secca e a guscio e nelle spezie. La ricerca dell'OTA è stata condotta sui campioni di vino, birra, cereali e derivati e caffè; il DON e lo ZEA sono stati entrambi ricercati su cereali e derivati, nonché sui baby food.

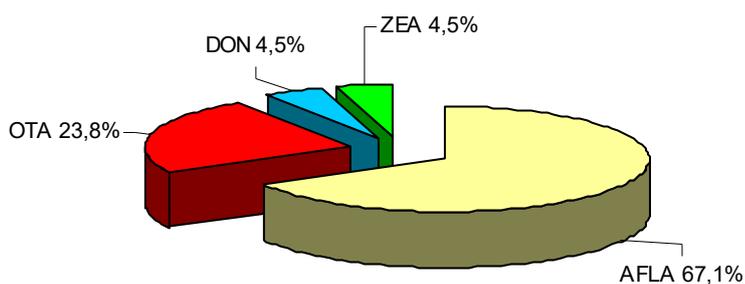
Ad ogni modo, è utile esaminare più nel dettaglio i dati sui campioni analizzati presso il laboratorio, osservando in Figura 3.1 la relativa distribuzione numerica suddivisa in base all'anno ed alla tipologia di alimento.

Va evidenziato che, sebbene i campioni di vino nell'arco dell'intero quadriennio siano stati la matrice alimentare più largamente campionata, vi è stato un progressivo aumento dei campioni di grano e frutta a guscio tra le merci di importazione, tanto che nel 2014 tali categorie sono divenute quelle maggiormente monitorate.



**Figura 3.1** Campioni analizzati presso il laboratorio chimico del Polo Alimenti nell'arco del quadriennio 2011-2014, divisi per tipologia di alimento e per anno.

Andando ad osservare le determinazioni analitiche delle micotossine (tabella 3.2), esse sono state in totale 2121 con una distribuzione percentuale riportata in Figura 3.2: la più elevata percentuale di determinazioni ha riguardato le AFLA (67,1%), seguite dall'OTA (23,8%), dal DON (4,5%) e dallo ZEA (4,5%).

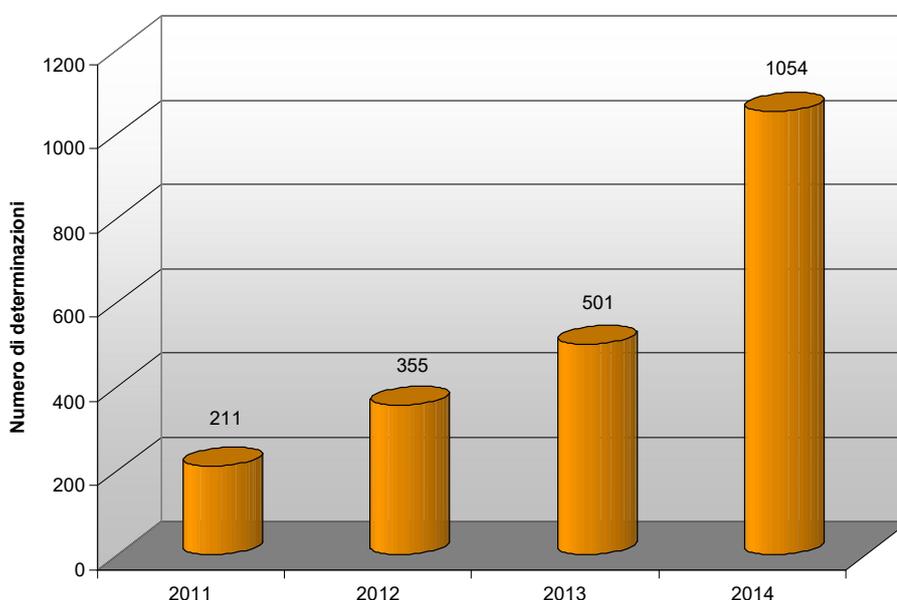


**Figura 3.2** Distribuzione percentuale delle determinazioni analitiche di micotossine effettuate nell'intero quadriennio 2011-2014. Per AFLA si intendono determinazioni di AFLA B1, B2, G1, G2.

La più elevata percentuale relativa alla determinazione delle AFLA è dovuta fatto che, per il controllo dei due parametri normati, ovvero l'AFLA B1 e la somma delle quattro AFLA (B1, B2, G1 e G2), occorre valutare quattro determinazioni per singolo campione. Tenendo conto

di ciò, la micotossina OTA è stata quella effettivamente maggiormente analizzata presso il laboratorio nel quadriennio considerato. Ciò è in linea col fatto che l'OTA è determinata su più tipologie di matrici, compreso il vino, che, come detto, è risultato la matrice più campionata.

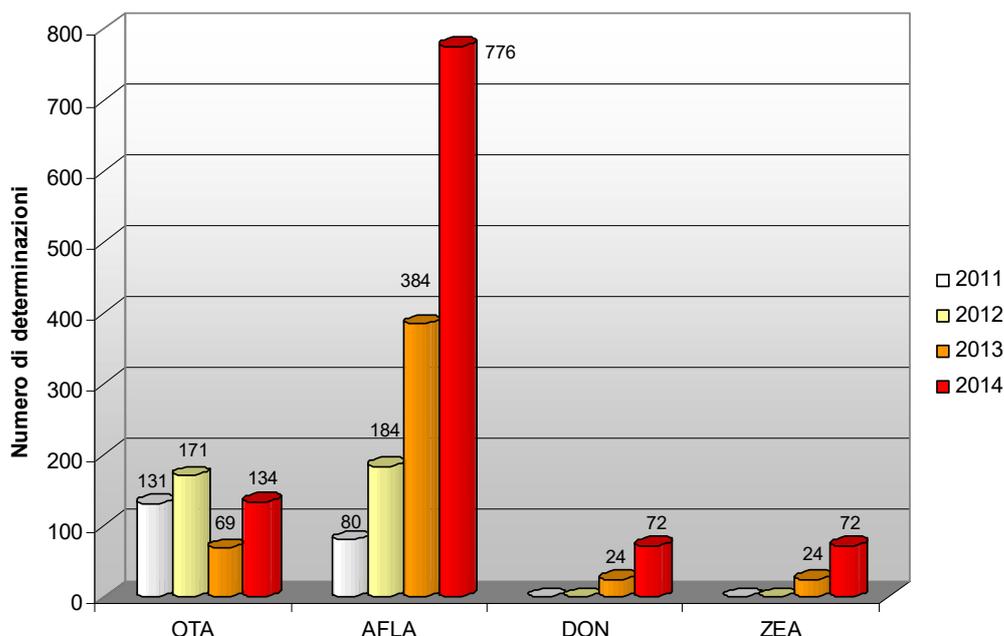
Osservando la Figura 3.3 in cui è riportato per ogni singolo anno il numero di determinazioni analitiche di micotossine effettuate, è interessante notare che il 49,7% delle determinazioni del quadriennio sono da attribuire al solo anno 2014, il che evidenzia il progressivo potenziamento della linea analitica “micotossine” attuato nel laboratorio, in ottemperanza alle sempre più specifiche richieste derivanti dai Piani di controllo ufficiale.



**Figura 3.3** Numero di determinazioni analitiche di micotossine effettuate per ogni singolo anno presso il laboratorio chimico del Polo Alimenti.

Inoltre, l'accreditamento del laboratorio per prove relative a micotossine, a partire dall'anno 2012, ha costituito il requisito essenziale per la collaborazione con USMAF; vi è dunque stato un consistente incremento del numero dei campioni relativi al controllo delle merci in transito nei porti pugliesi, larga parte dei quali appartenenti alle categoria frutta secca e a guscio e cereali e derivati su cui viene focalizzata la ricerca delle micotossine.

Come si può osservare in Figura 3.4, la determinazione delle AFLA, le più “attenzionate” dal punto di vista tossicologico, presenta un trend crescente e, a partire dal 2012, tali micotossine diventano quelle maggiormente ricercate.



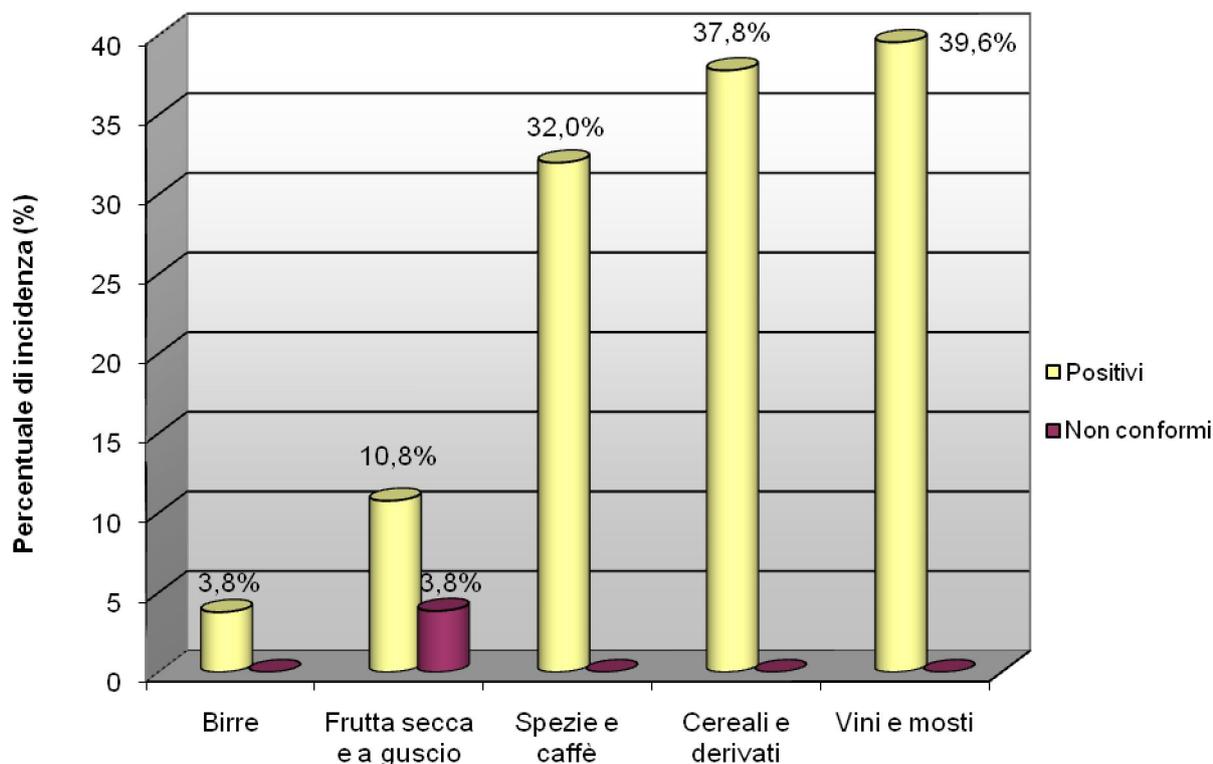
**Figura 3.4** Numero di determinazioni analitiche effettuate suddivise per anno e per specifica micotossina.

### 3.2 POSITIVITÀ E NON CONFORMITÀ

Dai dati riportati in tabella 3.1 è possibile osservare il numero di “*campioni positivi*”, ovvero quelli con livelli di micotossine tali da essere rivelati e quantificati con le tecniche analitiche in uso, e “*campioni non conformi*”, ovvero quelli che superano il tenore massimo “oltre ogni ragionevole dubbio”. Si può notare che il 30,6% di tutti i campioni analizzati nel quadriennio è risultato “naturalmente contaminato”.

Ovviamente, per leggere meglio questi dati, va tenuta presente la numerosità assoluta dei campioni stessi per ogni categoria considerata, dal momento che, maggiore è il numero di campioni, maggiore sarà il significato statistico dei dati percentuali ottenuti. Escludendo pertanto i baby food (statisticamente non significativi in quanto sono stati analizzati solo n. 4

campioni), nella Figura 3.5 viene rappresentata, per ciascuna classe di campioni analizzati, l'incidenza dei casi di positività (barre in giallo) e di non conformità (barre in rosso).



**Figura 3.5** Incidenza dei casi di positività e di non conformità all'interno di ogni singola classe di campioni alimentari analizzati.

Si nota inoltre che le categorie di alimenti con una maggiore incidenza di positività sono rappresentate da vini e cereali e derivati.

Il numero di campioni non conformi è stato esiguo, costituendo lo 0,8% del totale dei campioni analizzati, ed ha riguardato una sola matrice alimentare: la frutta secca e a guscio.

Per la frutta secca e a guscio sono stati analizzati 130 campioni, sono risultati positivi 14 campioni (il 10,8%) e 5 campioni sono risultati non conformi (il 3,8% del totale, il 35,7% dei positivi).

Nella tabella 3.3 vengono riportati, per le varie micotossine e per le varie matrici alimentari, il numero e la percentuale di positività, per comprendere quali siano state le micotossine più frequentemente rilevate.

---



---

**Numero di determinazioni di micotossine a livelli quantificabili**

---

<b>Alimento</b>	<b>OTA</b>	<b>AFLA</b>	<b>DON</b>	<b>ZEA</b>
Vini e mosti	127	-	-	-
Frutta secca e a guscio	-	41*	-	-
Cereali e derivati	13	1	46	1
Birre	2	-	-	-
Spezie e caffè	8	4	-	-
Baby food	-	-	3	-
<b>Positività totali</b>	150	46*	49	1
<b>% di positività per tipologia di micotossina</b>	29,7%	6,5%*	51,0%	1,0%

---

\* indica la presenza di non conformità tra i casi di positività

**Tabella 3.3** Numero di determinazioni di micotossine in cui si sono ottenuti livelli superiori ai limiti di quantificazione (LOQ); nel caso delle determinazioni di aflatossine, sono stati contati sia i casi in cui il livello di B1 è risultato quantificabile, sia i casi in cui la somma dei livelli di B1, B2, G1 e G2 è risultata quantificabile. Il trattino indica un valore pari a zero campioni.

In termini di incidenza percentuale, rapportando il numero di determinazioni positive al numero di determinazioni effettuate per singola tipologia di micotossine, il DON è risultata quella più frequentemente riscontrata, in particolare su cereali e derivati.

L'OTA è risultata positiva nel 29,7% delle sue determinazioni e circa l'85% di tali positività è stato riscontrato su campioni di vino.

Le AFLA, con il 6,5% di positività, sono state le uniche a presentare superamenti dei tenori massimi (su frutta a guscio).

Lo ZEA è risultato quantificabile in un numero di casi molto ridotto rispetto alle altre micotossine.

Nella tabella 3.4 sono riportati i dettagli relativi ai 5 campioni risultati non conformi, tutti riscontrati nell'anno 2014.

Tipologia campione	Origine	Prelevatore	Livelli riscontrati AFLA ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	Tenori massimi consentiti dal Reg. 1881/06 e s.m. ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )
Noccioli di albicocca	Uzbekistan	USMAF	B1 = 28,7 TOT = 32,1	B1 = 12,0 TOT = 15,0 Prodotto destinato ad essere sottoposto ad altro trattamento
Noccioli di albicocca	Tajikistan	USMAF	B1 = 21,7 TOT = 24,9	B1 = 8,0 TOT = 10,0 Prodotto destinato al consumo diretto
Noccioli di albicocca	Uzbekistan	USMAF	B1 = 23,4 TOT = 24,5	
Mandorle	Afghanistan	USMAF	B1 = 66,9 TOT = 73,3 B1 = 72,2 TOT = 77,0	
Pistacchi	Iran	ASL LE	B1 = 15,8 TOT = 16,9	

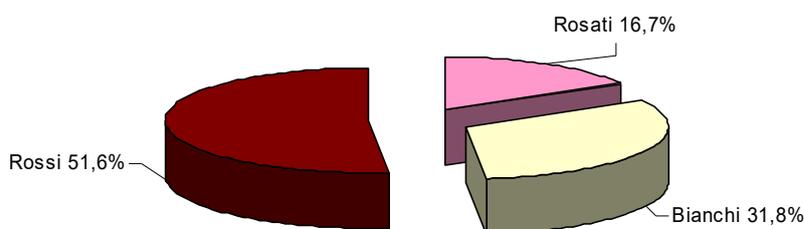
**Tabella 3.4** Campioni risultati non conformi per i livelli di micotossine trovati nell'arco del quadriennio 2011-2014. In accordo con la normativa: per tutti i prodotti indicati, ad eccezione dei pistacchi, erano stati prelevati n.2 campioni di laboratorio poichè le partite superavano il peso di 2 t; per il prodotto da sottoporre a cernita o ad altro trattamento fisico, il dato è stato espresso come media delle determinazioni effettuate sui due campioni di laboratorio; per i prodotti destinati al consumo diretto, in tabella sono indicati i livelli trovati al di sopra dei tenori massimi per i singoli campioni di laboratorio.

Le non conformità, tutte riscontrate nell'anno 2014, hanno riguardato: 3 campioni di noccioli di albicocca (uno proveniente dal Tajikistan e due dall'Uzbekistan), 1 campione di mandorle (provenienti dall'Afghanistan), e 1 campione di pistacchi prelevato alla distribuzione ma di origine extracomunitaria (Iran).

Per tali campioni si sono rilevati livelli di AFLA pari fino a 8 volte il tenore massimo consentito. E' importante notare che dei campioni non conformi, 4 derivavano dal controllo sulle merci all'importazione e le relative partite sono state dunque respinte; il quinto campione, prelevato nell'ambito del Piano regionale di controllo ufficiale, ha portato all'attivazione del "Sistema di Allerta Rapido per gli Alimenti e i Mangimi" (RASFF).

### 3.3 OCRATOSSINA A NEL VINO

Il vino rappresenta una matrice alimentare di grande importanza socio-economica per il territorio regionale. In termini percentuali (Fig. 3.6) i vini maggiormente campionati sono stati i vini rossi (51,6%), seguiti poi da bianchi (31,8%) e rosati (16,7%).



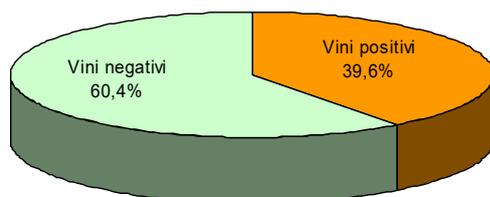
**Figura 3.6** Distribuzione percentuale del numero di vini analizzati nell'arco del quadriennio 2011-2014, distinti per tipologia.

Il numero dei campioni di vino analizzati presso il laboratorio, ed il numero di casi di positività sono osservabili in tabella 3.5.

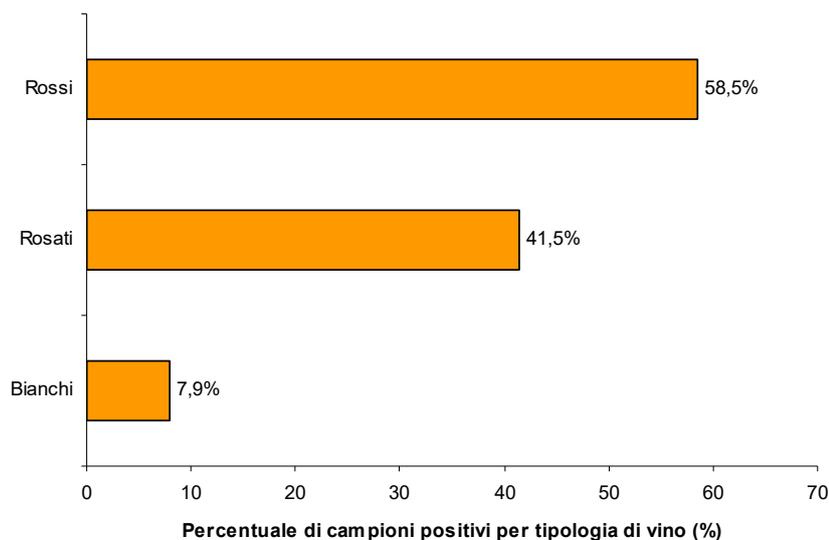
Tipologia di vini	Campioni analizzati	Campioni positivi	Non conformi
Rossi	164	96	-
Bianchi	101	8	-
Rosati	53	22	-
<b>Totale</b>	<b>318</b>	<b>126</b>	<b>-</b>

**Tabella 3.5** Campioni analizzati, campioni risultati positivi e campioni risultati non conformi; il trattino indica un valore pari a zero campioni.

In Figura 3.7 viene rappresentata la percentuale di positività (39,6%) sul totale dei campioni di vino analizzati, mentre nella Figura 3.8 è riportata la percentuale di positività per ogni singola tipologia di vino: oltre la metà dei vini rossi analizzati (58,5%) è risultata naturalmente contaminata.

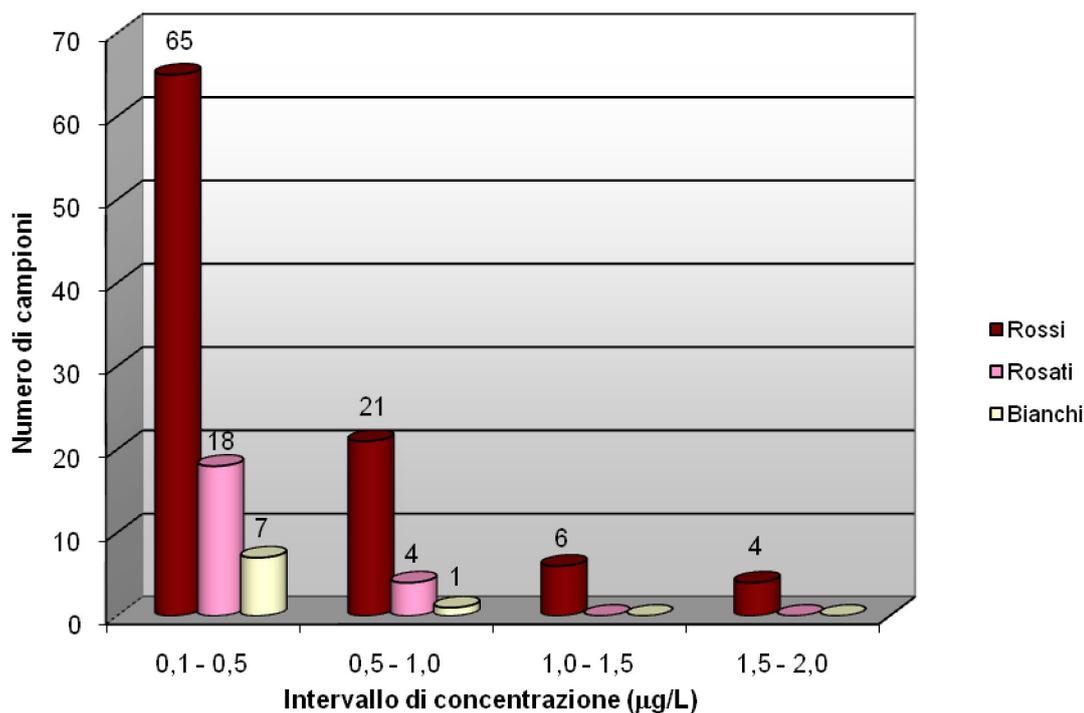


**Figura 3.7** Positività fra i campioni di vino analizzati nel quadriennio 2011-2014.



**Figura 3.8** Incidenza dei casi di positività all'interno di ogni singola tipologia di vino esaminata durante il quadriennio 2011-2014.

Fra i campioni naturalmente contaminati, il 7,9% (tutti vini rossi) ha presentato livelli superiori a 1 µg/L, ovvero il 50% del tenore massimo (2 µg/L), ma non sono mai stati riscontrati casi di non conformità. In Figura 3.9 si può osservare la distribuzione dei casi di positività in riferimento all'intervallo di concentrazione di OTA.



**Figura 3.9** Positività e loro distribuzione fra i campioni di vino analizzati nel periodo 2011-2014, al variare dell'intervallo di concentrazione di OTA considerato.

### 3.4 PRODOTTI DI IMPORTAZIONE

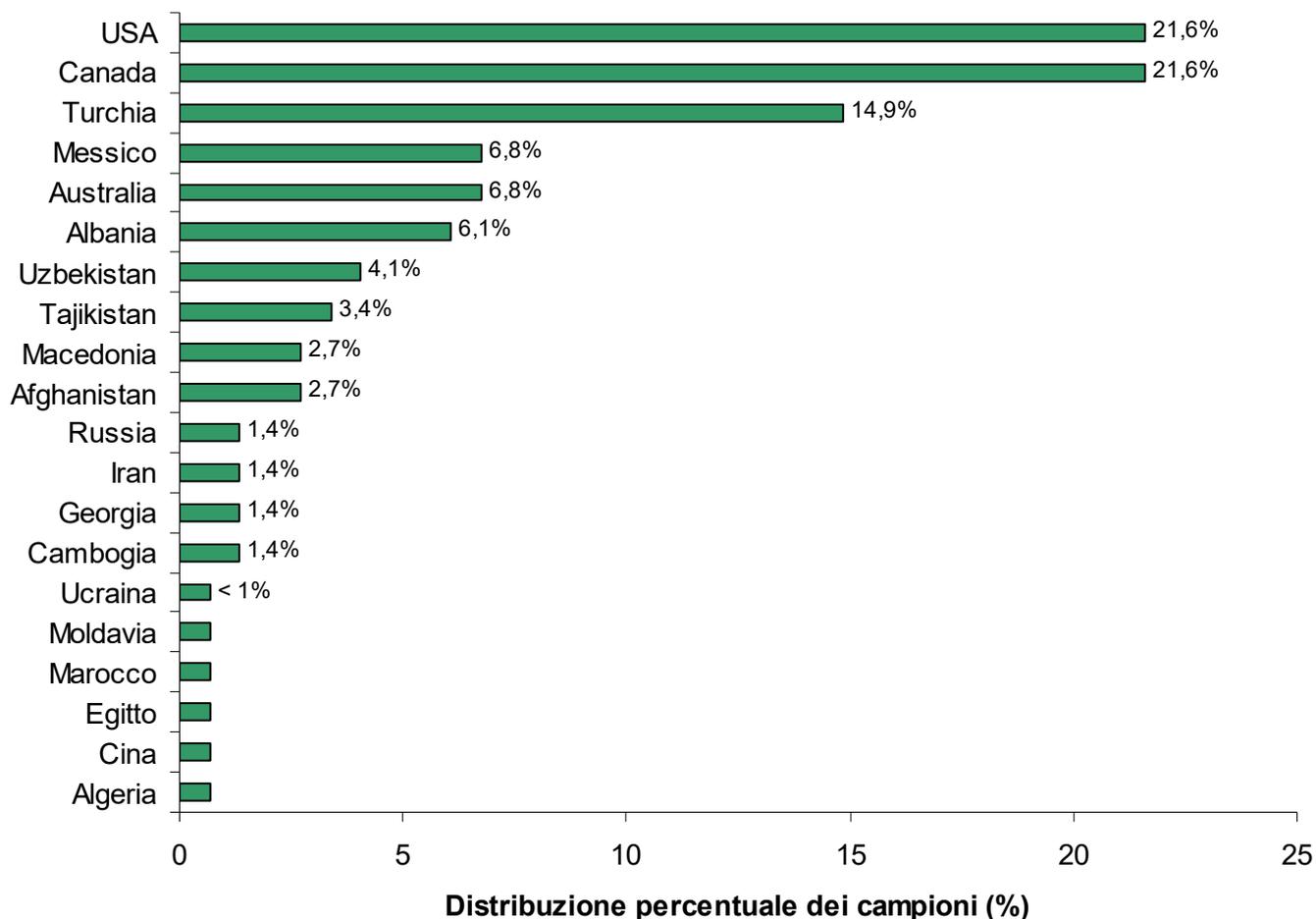
Un discorso a parte va fatto sulle merci di importazione, i cui campioni costituiscono una percentuale considerevole (22%) dei campioni complessivamente analizzati nel quadriennio.

I campioni di importazione prelevati dal personale dell'USMAF ed analizzati presso il laboratorio per la ricerca di micotossine sono stati costituiti soprattutto da frutta secca e a guscio (54,7%) e cereali e derivati (42,6%).

In Figura 3.10 viene rappresentata la distribuzione percentuale dei campioni di importazione in base all'origine geografica. Si evidenzia una forte rappresentanza di campioni provenienti dal Nord America (21,6% da USA e 21,6% da Canada), seguiti da campioni provenienti da Turchia Messico, Australia ed altre origini.

In tabella 3.6 è possibile osservare un quadro complessivo relativo al controllo delle merci all'importazione. Vengono riportati: la distribuzione numerica dei campioni analizzati (A), i casi di positività (P) rispetto ad almeno una fra le micotossine ricercate, nonché i casi di non conformità (NC), tutti riferiti all'origine ed alla tipologia di alimenti. Si può immediatamente

notare che il grosso dei controlli è stato effettuato su frutta secca e a guscio e su cereali e derivati.



**Figura 3.10** Distribuzione percentuale dei campioni di importazione analizzati presso il laboratorio nell'intero quadriennio 2011-2014, divisi in base all'origine geografica.

L'incidenza dei casi di positività sulle merci di importazione è stata del 55,6% nel caso dei cereali e derivati e del 16,0% nel caso della frutta secca e a guscio, mentre non vi sono stati casi di positività per birre e caffè (campioni comunque numericamente non rappresentativi). Le non conformità sono state riscontrate solo per la categoria frutta secca e a guscio, come descritto in precedenza, su 4 campioni provenienti Tajikistan (n.1 campione), dall'Uzbekistan (n.2 campioni) e dall'Afghanistan (n.1 campione).

Campioni															
Origine	Frutta secca e a guscio			Cereali e derivati			Birre			Caffè			Totale		
	A	P	NC	A	P	NC	A	P	NC	A	P	NC	A	P	NC
Afghanistan	4	3	1										4	3	1
Albania	6						2			1			9		
Algeria	1	1											1	1	
Australia	5	1		5									10	1	
Cambogia				2									2		
Canada				32	32								32	32	
Cina	1												1		
Egitto	1												1		
Georgia	2												2		
Iran	2	1											2	1	
Macedonia	1			3									4		
Marocco	1												1		
Messico				10	1								10	1	
Moldavia				1									1		
Russia				2									2		
Tajikistan	5	2	1										5	2	1
Turchia	21			1									22		
Ucraina				1									1		
USA	25			6	2		1						32	2	
Uzbekistan	6	5	2										6	5	2
<b>Totale</b>	<b>81</b>	<b>13</b>	<b>4</b>	<b>63</b>	<b>35</b>	<b>-</b>	<b>3</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>1</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>148</b>	<b>48</b>	<b>4</b>

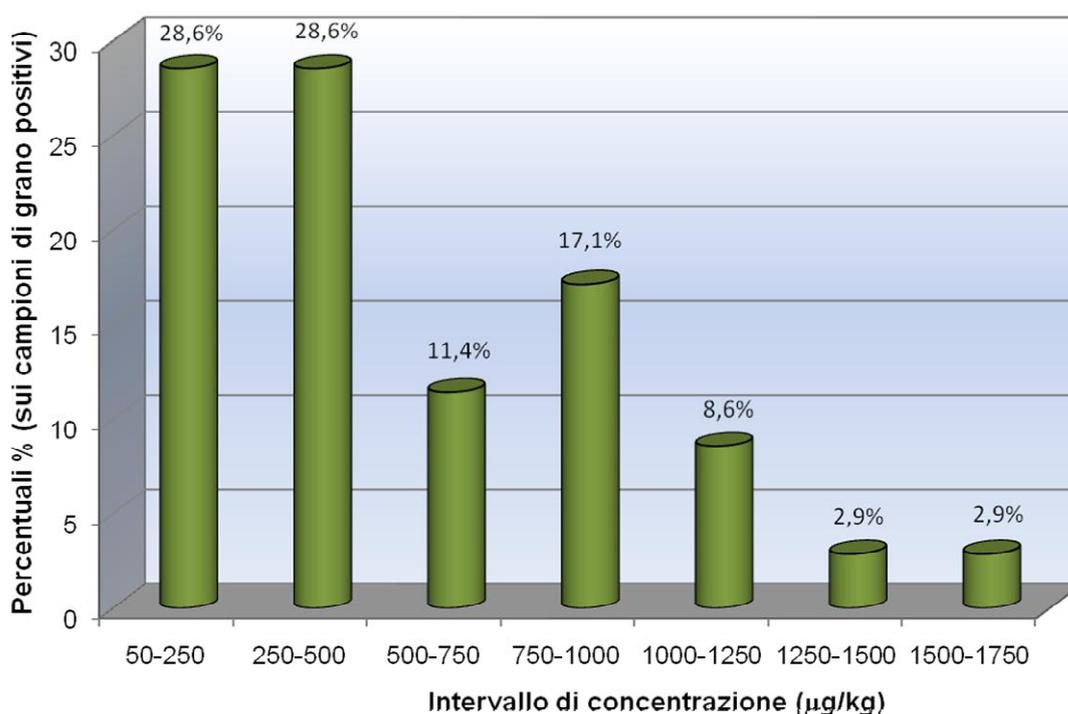
**Tabella 3.6** Campioni analizzati (A), campioni risultati positivi (P) e campioni risultati non conformi (NC) provenienti dai controlli sulle merci di importazione, divisi in base alla tipologia di alimento e all'origine geografica. Ove non riportato alcun dato numerico ed ove utilizzato il trattino, si intende un valore pari a zero campioni.

E' a questo punto interessante evidenziare i risultati relativi al monitoraggio del DON sul grano di importazione, dal momento che tale micotossina è quella che nel quadriennio ha

mostrato la più larga percentuale di positività, e dal momento che tra le merci di importazione il grano è stato una delle matrici più campionate.

Il grano di importazione analizzato proveniva da Canada (55,2%), Messico (17,2%), USA (10,3%), Australia (8,6%), Russia (3,4%), Moldavia (1,7%), Turchia (1,7%), Ucraina (1,7%).

Il 60,3% dei campioni di grano di importazione è risultato positivo al DON, ma non sono mai stati riscontrati superamenti dei tenori massimi (1250 e 1750  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , rispettivamente, per grano tenero e grano duro non trasformati). In Fig. 3.11 è possibile osservare la distribuzione dei valori di DON riscontrati nei grani di importazione analizzati e risultati positivi.



**Fig. 3.11** Distribuzione percentuale, tra i campioni di grano di importazione risultati positivi, al variare dell'intervallo di concentrazione di DON.

Tra tutti i campioni risultati positivi, il 14,3% (costituito da grano duro) ha mostrato valori superiori a 1000  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ; di questi, il campione di grano con il livello più alto di DON (1540  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) proveniva dagli USA, mentre i restanti erano di origine canadese con valori fino a 1370  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . L'incidenza delle positività è risultata fortemente influenzata dalla provenienza dei grani stessi: i campioni provenienti dal Canada sono risultati positivi nel 100% dei casi, mentre per i campioni provenienti da USA e Messico le percentuali di positività sono state rispettivamente 33,3% e 10,0%.

#### **4. CONSIDERAZIONI FINALI**

Nell'ambito del monitoraggio ufficiale sulla contaminazione da micotossine negli alimenti effettuato da ARPA Puglia nel 2011-2014, si è riscontrata una percentuale inferiore all'1% di campioni non conformi rispetto ai tenori massimi. Tuttavia i campioni non conformi, tutti appartenenti alla categoria frutta a guscio, hanno presentato elevati livelli di contaminazione.

In larga percentuale tali non conformità sono state riscontrate su merci di importazione che quindi sono state respinte prima di poter entrare nel mercato europeo. I risultati riportati nel presente lavoro, ottenuti utilizzando metodi validati ed accreditati, evidenziano dunque quanto sia importante mantenere elevato il livello di efficacia dei controlli al fine di assicurare un altrettanto elevato livello di tutela della salute dei consumatori.

## 5. BIBLIOGRAFIA

- Bennett J.W., Klich M. "Mycotoxins". *Clinical Microbiology Reviews*, 16 (2003) 497-516
- Circolare del Ministero della Sanità 9 giugno 1999, n. 10. Direttive in materia di controllo ufficiale sui prodotti alimentari: valori massimi ammissibili di micotossine nelle derrate alimentari di origine nazionale, comunitaria e Paesi terzi. *Gazzetta Ufficiale* n. 135, 11 giugno 1999
- Duarte S.C., Lino C.M., Pena A. "Mycotoxin food and feed regulation and the specific case of ochratoxin A: a review of the worldwide status". *Food Additives & Contaminants: Part A*, 27 (2010) 1440-1450
- Dutton M.F. "Fumonisin, mycotoxins of increasing importance: their nature and their effects". *Pharmacol. Ther.*, 70 (1996) 137-161
- Flajs D., Peraica M. "Toxicological properties of citrinin". *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology*, 60 (2009) 457-464
- Hussein H.S., Brasel J.M. "Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals". *Toxicology*, 167 (2001) 101-134
- Krska R., Crews C. "Significance, chemistry and determination of ergot alkaloids: a review". *Food Additives and Contaminants*, 25 (2008) 722-731
- Manabe M. "Fermented foods and mycotoxins". *Mycotoxins*, 51 (2001) 25-28
- Merrill A.H. Jr, Sullards M.C., Wang E., Voss K.A., Riley R.T. "Sphingolipid metabolism: roles in signal transduction and disruption by fumonisins". *Environ. Health Perspect.*, 109 (2001) 283-289
- Mishra H.N., Chitragada Das "A Review on Biological Control and Metabolism of Aflatoxin". *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 43 (2003) 245-264
- Regolamento (CE) n. 401/2006 della Commissione del 23 febbraio 2006 e s.m. relativo ai metodi di campionamento e di analisi per il controllo ufficiale dei tenori di micotossine nei prodotti alimentari. *Gazzetta Ufficiale dell'Unione Europea* L 70/12 del 9 marzo 2006
- Regolamento (CE) n. 1881/2006 della Commissione del 19 dicembre 2006 e s.m. che definisce i tenori massimi di alcuni contaminanti nei prodotti alimentari. *Gazzetta Ufficiale dell'Unione Europea* L 364/5 del 20 dicembre 2006
- Rocha O., Ansari K., Doohan F.M. "Effects of trichothecene mycotoxins on eukaryotic cells: a review". *Food additives and contaminants*, 22 (2005) 369-378

- Sito web istituzionale dell’Agenzia Internazionale per la Ricerca sul Cancro: <http://www.iarc.fr>
- Sito web istituzionale dell’Istituto Superiore di Sanità: [www.iss.it](http://www.iss.it)
- Stockmann-Juvala H., Savolainen K. “A review of the toxic effects and mechanisms of action of fumonisin B1”. *Human & experimental toxicology*, 27 (2008) 799-809
- Wang E., Norred W.P., Bacon C.W., Riley R.T., Merrill A.H. “Inhibition of sphingolipid biosynthesis by fumonisins. Implications for diseases associated with *Fusarium moniliforme*”. *J. Biol. Chem.*, 266 (1991) 14486–14490
- Zinedine A., Soriano J.M., Molto J.C., Manes J. “Review on the toxicity, occurrence, metabolism, detoxification, regulations and intake of zearalenone: an oestrogenic mycotoxin”. *Food and chemical toxicology*, 45 (2007) 1-18