

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

Gilberto Giangolini (a), Andrea Valiani (b)

(a) Centro di Riferenza Nazionale per la Qualità del Latte e dei Prodotti Derivati degli Ovini e dei Caprini, Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana "M. Aleandri", Roma, Italia

(b) Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche "Togo Rosati", Perugia, Italia

Introduzione

L'aflatossina M₁ (AFM₁) può essere presente nel latte in seguito all'ingestione di mangimi contaminati con aflatossina B₁. Il Regolamento (CE) 1831/2003 (1) definisce il limite di legge dell'AFM₁ nel latte in 0,050 µg/kg e all'art. 2 introduce il concetto di fattori specifici di concentrazione/diluizione per gli alimenti sottoposti a trattamento tecnologico.

Per Fattore di Concentrazione (FC) si intende il rapporto tra la concentrazione di AFM₁ nel formaggio e la concentrazione nel latte di partenza. In Italia non è stato ancora definito un limite legislativo per l'AFM₁ nei prodotti lattiero-caseari.

Gli Operatori del Settore Alimentare (OSA), conformemente all'art. 2 del Regolamento (CE) 1831/2003, devono fornire all'autorità competente, in fase di controllo ufficiale, i fattori specifici di concentrazione o diluizione, e per fare questo devono necessariamente definire i coefficienti di concentrazione dei propri prodotti attraverso specifiche analisi quantitative per la determinazione di AFM₁. In assenza di dati degli OSA, o se tali dati sono ritenuti non idonei, sarà la stessa autorità competente a definire il fattore di concentrazione in base alle informazioni disponibili.

Il Ministero della Salute, in base al parere del Comitato Nazionale per la Sicurezza Alimentare n. 13 del 10/6/2013 (2), ha raccomandato l'adozione, in via provvisoria, dei seguenti fattori di concentrazione per l'AFM₁: 3,0 per i formaggi a pasta tenera e prodotti dal siero, 5,5 per i formaggi a pasta dura. Lo stesso Ministero ha successivamente indicato i criteri da seguire per la classificazione dei formaggi ai fini dell'applicazione dei due fattori di concentrazione sopra riportati, richiamando la Decisione della Commissione 97/80/CE (3).

Applicando questi fattori di concentrazione per un contenuto massimo di AFM₁ nel latte, si ottiene un limite di AFM₁ nel formaggio di 0,150 µg/kg per i formaggi a pasta tenera e prodotti del siero e 0,275 µg/kg per i formaggi a pasta dura.

La classificazione dei formaggi descritta nella Decisione della Commissione 97/80/CE si basa sul tasso di umidità della materia sgrassata (*Moisture Free Fat Basis*, MFFB):

$$MFFB\% = \frac{\text{Peso dell'acqua nel formaggio}}{\text{Peso totale} - \text{materia grassa nel formaggio}} \times 100$$

Ne risulta una classificazione in 5 categorie:

1. *Formaggio a pasta molle*: formaggio avente, una volta affinato, un MFFB di norma superiore o uguale al 68%.
2. *Formaggio a pasta semi-molle*: formaggio avente, una volta affinato, un MFFB di norma superiore o uguale al 62% e inferiore al 68%.

3. *Formaggio a pasta semi-dura*: formaggio avente, una volta affinato, un MFFB di norma superiore o uguale al 55% e inferiore al 62%.
4. *Formaggio a pasta dura*: formaggio avente, una volta affinato, un MFFB di norma superiore o uguale al 47% e inferiore al 55%.
5. *Formaggio a pasta extra-dura*: formaggio avente, una volta affinato, un MFFB di norma inferiore al 47%.

A queste categorie si somma la classificazione del formaggio fresco, identificato come un prodotto ottenuto partendo dal latte cagliato dal quale è stata eliminata la maggior parte del siero. Non specifica la percentuale di MFFB.

Attività di lavoro

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

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

Il GdL ha iniziato la sua attività esaminando la bibliografia disponibile, ha poi eseguito una valutazione dei prodotti lattiero caseari di maggior rilevanza dal punto di vista della diffusione, dell'importanza commerciale e della rappresentatività del settore merceologico, al fine di costituire una lista di prodotti. Su questi prodotti gli IZS, attraverso determinazioni analitiche e dati bibliografici, hanno calcolato il valore di MFFB, come previsto dalla Decisione 97/80/CE, per poterli ricondurre ad una delle cinque categorie previste dalla stessa Decisione.

Sono stati quindi selezionati alcuni prodotti che potessero rappresentare le diverse categorie di formaggi, al fine di definire, per ogni categoria, i relativi fattori di concentrazione per AFM₁.

Dalla verifica dei valori di MFFB delle diverse tipologie commerciali di formaggi, ottenuta integrando i dati forniti dagli IZS, emerge che la stessa tipologia commerciale di prodotto lattiero caseario può presentare un intervallo di valori di MFFB che la pongono a cavallo tra due differenti categorie così come individuate dalla Decisione 97/80/CE. Pertanto, l'appartenenza ad una delle suddette categorie della Decisione 97/80/CE non potrebbe essere individuata in funzione della tipologia commerciale del prodotto (caciotta, mozzarella, crescenza, ecc.) ma determinata in ragione del valore MFFB di volta in volta riscontrato.

Nello studio sulla determinazione del fattore di concentrazione a livello sperimentale intervengono numerosi fattori di variabilità quali:

- livello di contaminazione del latte;
- tecnologia di produzione;
- composizione in grasso e proteine del latte;
- resa casearia;
- umidità del formaggio;
- metodo di determinazione dell'AFM₁.

Alcuni autori (4-6) hanno dimostrato che l'AFM₁ si lega alle proteine del latte e in particolare alle caseine, ciò determina una concentrazione della tossina nel formaggio.

L'AFM₁ si distribuisce tra la cagliata e il siero in percentuali molto variabili, in relazione alla tipologia di caseificazione, al tipo di formaggio prodotto e alla contaminazione del latte di partenza.

Studi nazionali su diverse tipologie di formaggi hanno evidenziato i seguenti fattori di concentrazione:

- su grana padano Manetta *et al.* (7) hanno rilevato FC di 3 nella cagliata e di 4,5 in forme di 12 mesi.
- in formaggio parmigiano reggiano, Pietri *et al.* (8) hanno riscontrato un FC medio di 4,7 nella cagliata e di 5,5 nelle forme stagionate.

In prove sperimentali condotte dall'IZS Lombardia ed Emilia Romagna si è evidenziato nella cagliata del formaggio grana un fattore di concentrazione di 3,11 e di 6,2 nel prodotto finito.

Bovo *et al.* (9) hanno rilevato un FC di 2,4 nella mozzarella, di 4,0 nella caciotta, di 4,7 nel taleggio e di 4,9 nell'asiago d'allevato.

Cavallarin *et al.* (10) hanno rilevato FC di 1,4 su primo sale e 2,2 su robiola mentre hanno evidenziato un FC di 6,71 su maccagno, un formaggio a pasta dura stagionato.

Pecorelli *et al.* (11) su pecorino semi-stagionato hanno riscontrato un FC di 4,13.

Battaccone *et al.* (12) hanno rilevato fattori di concentrazione da 1,8 a 2,9 su cagliate di pecora.

Dall'esame della bibliografia nazionale e internazionale si evidenzia però una mancanza di dati consistenti determinando una difficoltà nell'attribuzione, in via definitiva, di fattori di concentrazione nelle diverse categorie di formaggi:

- numerosi studi non fanno riferimento a valori di MFFB del prodotto e pertanto il coefficiente di concentrazione trovato non può essere ricondotto ad una delle cinque categorie della Decisione 97/80/CE;
- gli studi internazionali sono stati eseguiti su prodotti lattiero-caseari non facilmente riconducibili ad equivalenti nazionali;
- molte sperimentazioni sono state fatte impiegando latte artificialmente contaminato e questo introduce la possibilità di un diverso trasferimento del contaminante nel processo di trasformazione rispetto alla contaminazione naturale;
- in alcuni lavori il FC individuato è molto differente, in funzione della tipologia di formaggio considerato, rispetto a quanto ci si attenderebbe date le sue caratteristiche tecnologiche e compositive.

Ad oggi il GdL ha potuto considerare utili, al fine di una prima valutazione, poche sperimentazioni di cui la maggior parte eseguite in Italia.

Dai dati al momento disponibili sembra che il fattore di concentrazione dell'AFM₁ abbia una correlazione inversa con il valore di MFFB. Per i prodotti a pasta molle (MFFB $\geq$ 68%) il fattore di concentrazione sembra essere prossimo a 3; necessario sarà uno studio su prodotti come stracchini e crescenze dove i dati disponibili sono esigui.

Per i prodotti a pasta semi-molle (68% > MFFB $\geq$ 62%) i dati si riferiscono a caciotte prodotte con latte vaccino: il fattore di concentrazione è risultato pari a 4, differenziandosi da quello indicato dal Ministero della Salute dove tale categoria viene accumulata alla categoria precedente sotto un unico FC pari a 3.

Per i prodotti a pasta semi-dura (62% > MFFB $\geq$ 55%) il coefficiente di concentrazione più rappresentativo risulta essere 5.

Per i prodotti a pasta dura (55% > MFFB $\geq$ 47%) i dati si riferiscono ad un solo prodotto (asiago d'allevato) il cui fattore di concentrazione è anche in questo caso pari a 5. Pertanto, si potrebbe ipotizzare di far confluire le due categorie sotto un unico fattore di concentrazione.

Per i prodotti a pasta extra-dura (MFFB < 47%) il fattore di concentrazione è tendente a 6, non discostandosi molto dal fattore di concentrazione al momento indicato per tale categoria (5,5).

Le ipotesi su esposte, basate sulle informazioni al momento disponibili, necessitano sicuramente di essere integrate al fine di accrescerne la robustezza.

Quanto detto può essere prospettato esclusivamente per i prodotti lattiero caseari intesi come formaggi, in quanto il destino della componente caseinica, ovvero del principale “carrier” dell’AFM₁ nel processo tecnologico è sostanzialmente costante. Per gli altri derivati del latte, quali i latticini propriamente detti (ricotta, panna, mascarpone, ecc.), considerando il diverso destino della componente caseinica, sarà necessario fare valutazioni specifiche.

Un’ulteriore considerazione riguarda la specie animale da cui deriva il latte. Dai dati al momento disponibili, sembra che il fattore di concentrazione risenta anche delle caratteristiche del latte di partenza, inteso come contenuti delle componenti solide e quindi indirettamente dalla resa casearia.

Si ribadisce pertanto la necessità di incrementare i dati disponibili attraverso studi ad hoc, che dovranno essere effettuati sulla base di disegni sperimentali che prevedano anche il possibile coinvolgimento e la collaborazione di strutture produttive.

Bibliografia

1. Europa. Regolamento (CE) n. 1831/2003 della Commissione del 19 dicembre 2003, che definisce i tenori massimi di alcuni contaminanti nei prodotti alimentari. *Gazzetta Ufficiale dell’Unione Europea* L 364 del 20.12.2003.
2. Ministero della Salute, Comitato Nazionale per la Sicurezza Alimentare. *Parere n.13 del 10.06.2013. Applicabilità dei coefficienti di trasformazione in equivalente latte (All. 2, D.M. 31 luglio 2003 del Ministero delle Politiche Agricole e Forestali)*. Roma: Ministero della Salute; 2013.
3. Europa. Decisione della Commissione 97/80/CE del 18 dicembre 1996 recante norme d’applicazione della direttiva 96/16/CE del Consiglio, relativa alle indagini statistiche da effettuare nel settore del latte e dei prodotti lattiero-caseari. *Gazzetta ufficiale delle Comunità europee* L 24 del 25.1.1997.
4. Kamkar A, Karim G, Aliabadi FS, Khaksar R. Fate of aflatoxin M1 in Iranian white cheese processing. *Food and Chemical Toxicology* 2008;46:2236-8.
5. Mendonca C, Venancio A. Fate of aflatoxin M1 in cheese whey processing. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 2005;85:2067-70.
6. Barbiroli A, Bonomi F, Benedetti S, Mannino S, Monti L, Cattaneo T, Iametti S. Binding of aflatoxin M1 to different protein fractions in ovine and caprine milk. *Journal of Dairy Science* 2007;90:532-40.
7. Manetta AC, Giammarco M, Di Giuseppe L, Fusaro I, Gramezzi A, Formigoni A, Vignola G, Lambertini L. Distribution of aflatoxin M1 during Grana Padano cheese production from naturally contaminated milk. *Food Chemistry* 2009;113:595-9.
8. Pietri A, Mulazzi A, Piva G, Bertuzzi T. Fate of aflatoxin M1 during production and storage of parmesan cheese. *Food Control* 2016;60:478-83.
9. Bovo D, Dall’Ava B, Contiero L, Barberio A, Angeletti R and Biancotto G. Fate of aflatoxin M1 from milk to different kinds of Italian cheese. In: *8th International Symposium on Recent Advances in Food Analysis*, Prague, November 2017.
10. Cavallarin L, Antoniazzi S, Giaccone D, Tabacco E, Borreani G. Transfer of aflatoxin M1 from milk to ripened cheese in three Italian traditional production methods. *Food Control* 2014; 38:174-7.
11. Pecorelli I, Braciari R, Ortenzi R, Ciriaci M, Checcarelli S, Roila R, Capotorti A, Spaccini G, Valiani A. Evaluation of the concentration factor of aflatoxin in semi-hard Pecorino cheese obtained from naturally contaminated milk. *Food Control* 2018;85:194-8.
12. Battacone G, Nudda A, Palomba M, Pascale M, Nicolussi P. and Pulina G. Transfer of Aflatoxin B1 from Feed to Milk and from Milk to Curd and Whey in Dairy Sheep Fed Artificially Contaminated Concentrates. *Journal of Dairy Science* 2005;88:3063-9.