

RIPARTIZIONE DELLE MICOTOSSINE NORMATE ED EMERGENTI DURANTE LA MOLITURA DEL MAIS

Valentina Scarpino (a), Francesca Vanara (a), Michael Sulyok (b), Amedeo Reyneri (a),
Massimo Blandino (a)

(a) *Dipartimento di Scienze Agrarie, Forestali e Alimentari, Università degli Studi di Torino, Grugliasco, Italia*

(b) *Center for Analytical Chemistry, Department for Agrobiotechnology (IFA-Tulln), Tulln, Austria*

Introduzione

Oggigiorno, risulta sempre più necessario raccogliere dati sulla presenza e diffusione delle cosiddette micotossine “emergenti” nelle più importanti aree cerealicole dell’Unione Europea (UE), al fine di salvaguardare la sicurezza alimentare del consumatore valutandone correttamente l’esposizione e il rischio in concomitanza alle micotossine normate. Infatti, recentemente è stata rivolta una crescente attenzione a tali metaboliti secondari, non ancora normati a livello internazionale, ma su cui è in corso un intenso esame per valutarne la diffusione e le implicazioni sanitarie.

Inoltre, non sono ancora note informazioni circa il ruolo della molitura del mais su tali micotossine. Per tale motivo, il presente studio ha l’obiettivo di valutare l’effetto dei processi molitori a secco sulla ripartizione delle micotossine normate quali: fumonisine B (FB), deossinivalenolo (DON), zearalenone (ZEA) e aflatossine (AF); e dei più diffusi metaboliti fungini cosiddetti “emergenti” nella granella di mais, nei semilavorati e nei prodotti finiti ad uso alimentare.

Materiali e metodi

La sperimentazione è stata condotta presso un molino industriale processando 3 diversi lotti (2012-2014) con due sistemi di degerminazione:

- a secco: *Dry-Degermination*, DD;
- a umido: *Tempering-Degermination*, TD.

Campionando secondo il Regolamento (CE) 401/2006 (1) sono stati prelevati:

- la granella prima (Mais Non Pulito, MNP) e dopo la pulitura (Mais Pulito, MP);
- i sottoprodotti quali il germe, destinato essenzialmente all’industria olearia, e la farinetta ad uso zootecnico, un misto di crusca e parti di endosperma farinoso;
- i prodotti ad uso alimentare, quali le farine (bramata, fioretto e fumetto) dal processo di DD e gli *hominy grits* (grossi, medi e fini) dalla TD.

La granulometria delle particelle dei prodotti ad uso alimentare a base di mais ottenuti in seguito ai due processi di molitura è riportata in Tabella 1.

Tabella 1. Ridistribuzione in base delle dimensioni delle particelle dei prodotti ad uso alimentare a base di mais in seguito ai due processi di molitura DD e TD

Prodotti	Percentuale					
Processo di molitura DD						
	< 315 μm	315-500 μm	500-710 μm	710-800 μm	800-1000 μm	>1000 μm
Fioretto	95	5				
Fumetto	3	70	20	5	2	0
Bramata	4	12	35	22	25	2
Processo di molitura TD						
	< 2500 μm	2500-3000 μm	3000-4000 μm	>4000 μm		
<i>Hominy grits</i> fini	40	60				
<i>Hominy grits</i> medi	5	20	73			2
<i>Hominy grits</i> grossi						100

DD = dry-degermination; TD = tempering-degermination.

Estrazione e clean-up

Durante la fase estrattiva 5 g di sfarinato di mais sono stati estratti con 20 mL di $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{COOH}$ 79:20:1 (v/v/v) e posti in agitazione in un agitatore orbitale per 90 min. Il surnatante è stato successivamente diluito 1:1 con una soluzione di $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{COOH}$ 20:79:1 (v/v/v) e sottoposto ad analisi UPLC-MS/MS (*Ultra Performance Liquid Chromatography - tandem Mass Spectrometry*) multi-micotossina.

Analisi UPLC-MS/MS Multi-micotossina

I campioni estratti sono stati analizzati con un metodo multi-micotossina mediante l'impiego di un sistema LC-MS/MS ibrido Qtrap 5500 equipaggiato con una sorgente di ionizzazione *TurboIonSpray electrospray* (ESI) e un Sistema UPLC, in grado di quantificare simultaneamente 295 diversi metaboliti batterici e fungini, tra cui le micotossine emergenti (2).

Risultati e discussione

In tutti i campioni analizzati con il metodo LC-MS/MS multi-micotossina è stata rilevata la co-presenza delle micotossine normate e di 23 metaboliti fungini emergenti, tra cui: il 3- e il 15-acetildeossinivalenolo (3- e 15-ADON), l'aurofusarina, la beauvericina, la bikaverina, il butenolide, il deossinivalenolo-3-glucoside (DON-3-G), la culmorina (CULM) e le sue forme idrossilate (5- e 15-OH-CULM, 15-OH-CULMURON), le fumonisine A, la fusaproliferina (FUS), la fusarina C, la moniliformina (MON), il nivalenolo (NIV), le forme derivate dello ZEA – α - e β -zearalenolo (α -ZEA-ol e β -ZEA-ol), zearalenone-4-solfato (ZEA-S).

La Figura 1 riassume la ripartizione delle principali classi di micotossine rilevate in grafici separati: a) AF (AF B₁, AF B₂, AF G₁, AF G₂); b) FB (FB₁, FB₂, FB₃, FB₄); c) DON e derivati (DON, DON-3-G, 3-ADON, 15-ADON); d) CULM e forme idrossilate (CULM, 5- e 15-OH-CULM, 15-OH-CULMURON); e) MON; f) ZEA e derivati (ZEA, α -ZEA-ol e β -ZEA-ol, ZEA-S).

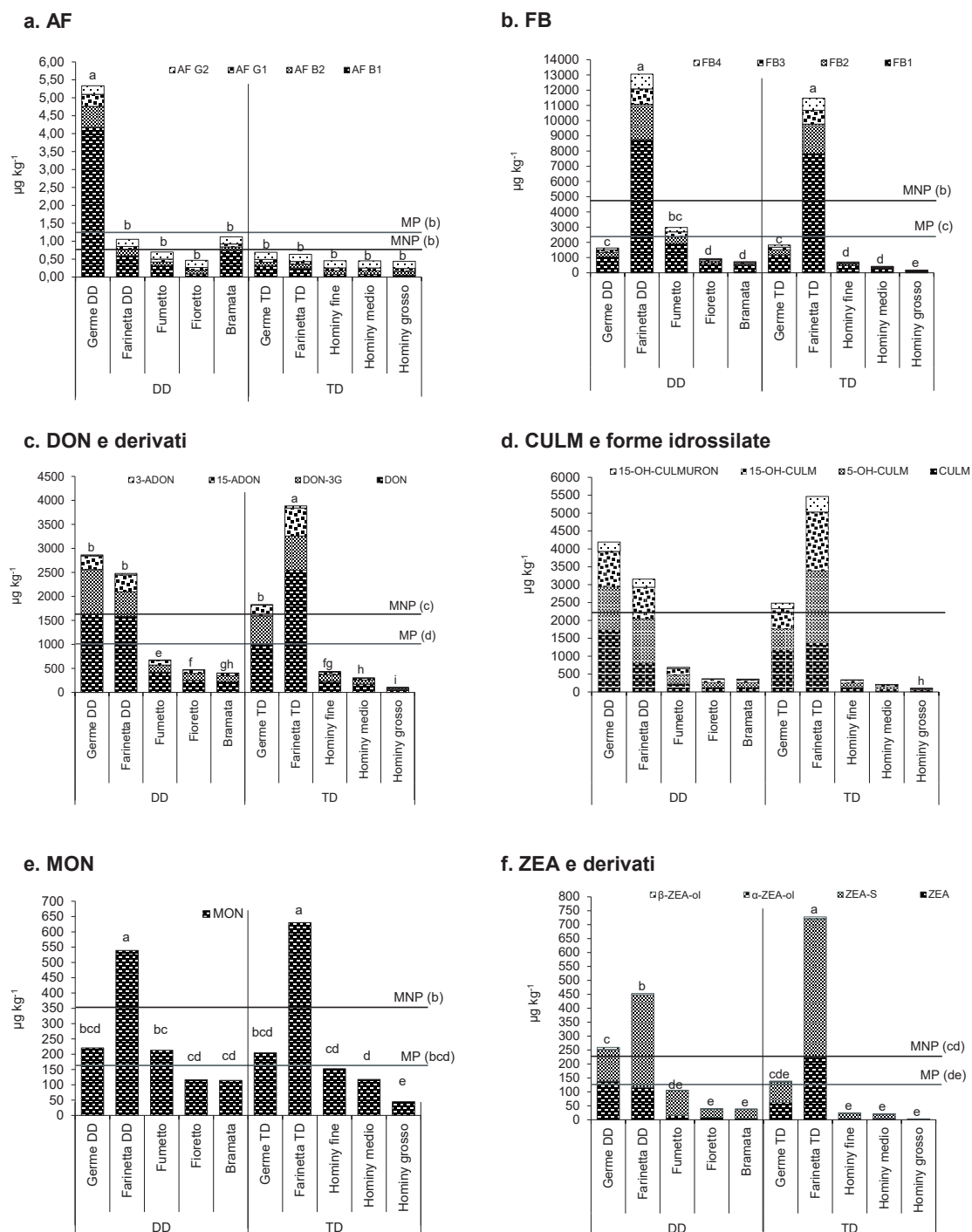


Figura 1. Ripartizione delle micotossine normate ed emergenti durante la molitura del mais. I valori medi, relativi al contenuto di micotossine/metaboliti fungini nelle diverse frazioni, seguiti da lettere diverse sono significativamente diversi (livello di significatività, $P < 0,001$)

Le operazioni di pulitura hanno ridotto in media di 1,2-2 volte il contenuto di tutti i metaboliti fungini rilevati rispetto alla granella di origine.

Per quanto riguarda il germe, il livello di contaminazione non si è differenziato da quello della granella pulita per la maggior parte dei metaboliti, ad eccezione di: AF, DON e derivati, NIV, ZEA e derivati, CULM e forme idrossilate, FUS, acido fusarico e fusarinolico, fusarina C e acido cogico; per i quali ha presentato un contenuto superiore di almeno 2 volte rispetto alla granella pulita. Un aumento di contaminazione paragonabile è stato anche registrato nella farinetta ad uso zootecnico, che assomma tegumenti e frazioni fini delle parti di endosperma farinoso, per tutti i metaboliti rilevati.

I prodotti destinati al consumo umano sono sempre risultati meno contaminati dei sottoprodotti precedentemente menzionati. Le farine bramata e fioretto hanno presentato mediamente per tutte le micotossine una decontaminazione superiore al 70% rispetto alla granella di partenza; mentre il fumetto, che presenta la granulometria più fine, solo del 50% e in alcuni casi addirittura inferiore. L'*hominy grits* grosso è risultata la frazione più decontaminata per tutti i metaboliti, con valori medi di decontaminazione superiori all'80%.

I prodotti con granulometria più fine sono risultati essere quelli maggiormente contaminati.

Conclusioni

La sperimentazione evidenzia che la distribuzione delle micotossine emergenti nelle frazioni di molitura, seppur per alcune il tasso di abbattimento è risultato inferiore, è simile a quella delle micotossine già normate. Infatti, per la maggior parte delle micotossine rilevate la contaminazione nei prodotti della lavorazione molitoria della granella di mais si riduce all'aumentare della granulometria del prodotto finito. Tale comportamento si è osservato per entrambi i processi di trasformazione considerati. Per le micotossine che hanno mostrato un'intensità di decontaminazione nei prodotti finiti inferiore rispetto a quello delle FB, si può ipotizzare una loro più interna localizzazione nell'endosperma della cariosside di mais. Risulta, inoltre, importante sottolineare l'aumento significativo della contaminazione nel germe di: AF, DON e derivati, NIV, ZEA e derivati, CULM e forme idrossilate, FUS, acido fusarico e fusarinolico, fusarina C e acido cogico. I dati raccolti forniscono una prima base per la valutazione del rischio di contaminazione da micotossine normate ed "emergenti" nei prodotti molitori della filiera maidicola alimentare. Pertanto, occorre prestare attenzione ai livelli di co-contaminazione nei prodotti con granulometria più fine e nei sottoprodotti e adottare attenti interventi di pulitura, tramite l'impiego di metodi sia meccanici che ottici.

Bibliografia

1. Europa. Regolamento (CE) n. 401/2006 della commissione del 23 febbraio 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 9.3.2006.
2. Malachova A, Sulyok M, Beltran E, Berthiller F, Krska R. Optimization and validation of a quantitative liquid chromatography - tandem mass spectrometric method covering 295 bacterial and fungal metabolites including all relevant mycotoxins in four model food matrices. *J Chromatogr A* 2014;1362:145-156.