

STUDIO DI UN SISTEMA DI DECONTAMINAZIONE DELL'OCRATOSSINA A DAI PRODOTTI DI SALUMERIA

Tiziana Pinciroli, Luca Maria Chiesa, Carlo Cantoni, Pier Antonio Biondi
Dipartimento di Scienze e Tecnologie Veterinarie per la Sicurezza Alimentare, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università degli Studi, Milano

Introduzione

Le Ocratossine sono un importante gruppo di micotossine tra cui la più rilevante è l'Ocratossina A (OTA). L'OTA è il prodotto del metabolismo secondario di miceti dei generi *Aspergillus* e *Penicillium* e ha effetti epatotossici, nefrotossici, teratogenetici ed è un possibile cancerogeno per l'uomo (IARC gruppo 2B) (1). Muffe produttrici di OTA sono in grado di svilupparsi su molti alimenti, soprattutto in fase di conservazione e stagionatura (cereali, frutta secca, caffè, cacao, spezie, liquirizia, vino, birra) e sulla superficie dei salumi.

In Italia, per quanto riguarda i prodotti carnei, la circolare del Ministero della Sanità n. 10 del 9 giugno 1999 ha fissato il limite massimo di 1 µg/kg di OTA nella carne suina e prodotti derivati (2).

Lo scopo del nostro lavoro è stato monitorare il livello di contaminazione da Ocratossina A in salami del Nord Italia e studiare l'efficacia della spazzolatura meccanica dei budelli come sistema di decontaminazione.

Materiali e metodi

Nella fase iniziale di screening sono stati analizzati 21 salami pronti per la vendita provenienti da aziende del Nord Italia per monitorare il livello di contaminazione da OTA. Al fine di studiare l'efficacia della spazzolatura sono state poi considerate 6 coppie di campioni pronti per la vendita ciascuna proveniente da un medesimo lotto, con il medesimo tempo di stagionatura (compreso tra 40 e 140 giorni) e condizioni di stagionatura. Di ciascuna coppia, un campione è stato spazzolato, mentre l'altro non è stato sottoposto ad alcun trattamento di decontaminazione. La possibile contaminazione a *spot* del budello ne ha reso necessaria la completa asportazione per l'analisi.

È stato rilevato e quantificato il livello di OTA nel budello, e di alcuni campioni è stata analizzata anche la parte edibile a cuore del prodotto.

Il procedimento analitico ha seguito la metodica descritta da Chiavaro *et al.* (3).

I campioni, di budello e parte edibile prelevata a cuore, sono stati estratti con una soluzione di metanolo e bicarbonato di sodio 1% (70:30); sono stati in seguito sottoposti a purificazione su colonna di immunoaffinità (Ochratest, VICAM) secondo le condizioni suggerite dalla casa produttrice. La quantificazione di OTA è stata eseguita tramite *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) con rivelazione fluorimetrica e standardizzazione esterna. L'analisi è stata condotta utilizzando una colonna Waters Xterra® MS C18 (150 mm x 4,6, 5 µm) usando come fase mobile una miscela di 3 eluenti: A=CH₃OH:H₂O (1:1), B= CH₃OH e C= CH₃COOH1%: CH₃OH (9:1); la composizione della miscela è stata fatta variare in 2 minuti da 40:20:40 a 0:60:40.

Risultati e discussione

Per quanto riguarda l'analisi in HPLC la curva di taratura è risultata lineare nell'intervallo 0,16-20 ng/mL e il limite di rivelazione (*Limit of Detection*, LOD) è risultato di 0,08 ng/mL.

Nella Figura 1 viene riportata l'immagine di un salame visibilmente contaminato da *A.ochraceus*.

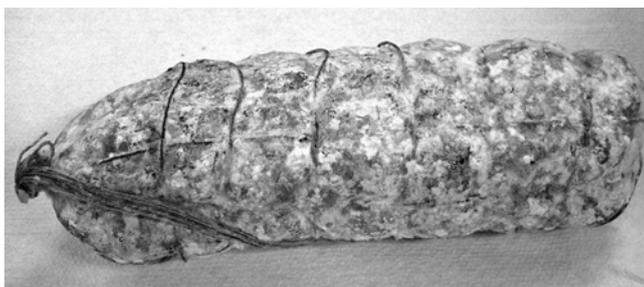


Figura 1. Salame visibilmente contaminato da *A. ochraceus*

Nella Figura 2 è riportato il cromatogramma di un campione contaminato da OTA.

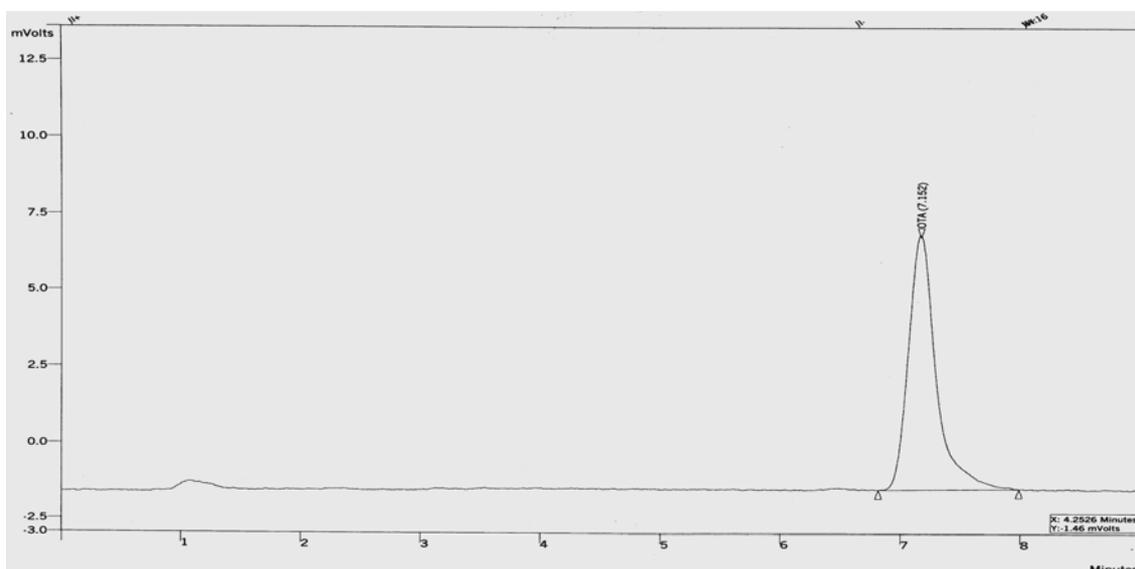


Figura 2. Cromatogramma di un campione contaminato da OTA

Nella Figura 3 sono riportati i contenuti di OTA rilevati in tutti i campioni non spazzolati.

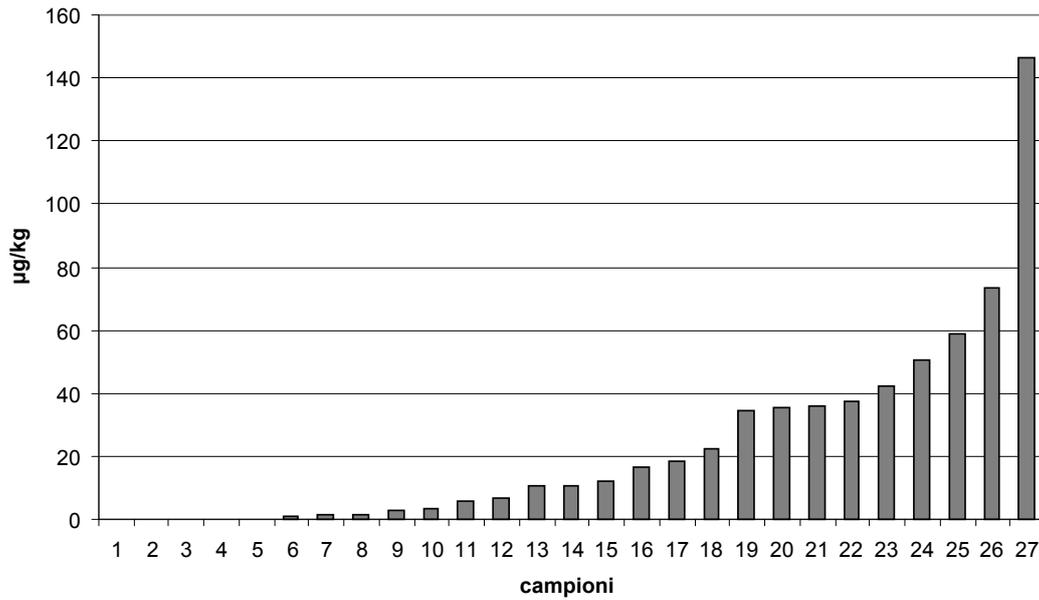


Figura 3. Concentrazione di OTA nei campioni pronti alla vendita non sottoposti a spazzolatura

Dalle analisi è emerso che dei 27 campioni non spazzolati, il 67% ha un livello di OTA <30 µg/kg, il 26% ha un livello compreso tra 30 e 60 µg/kg e il 7% ha un livello tra 60 e 150 µg/kg (Figura 4). Dei campioni con OTA <30 µg/kg, il 27% non presentava contaminazione >LOD.

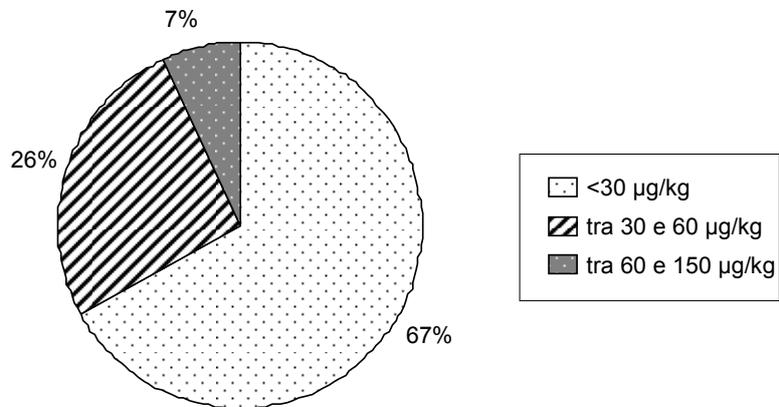


Figura 4. Percentuale di contaminazione da OTA nei campioni non sottoposti a spazzolatura

Non è stata riscontrata correlazione tra contenuto di OTA e tempo di stagionatura. Le analisi a cuore del prodotto non hanno mai mostrato un contenuto di OTA superiore al valore di LOD; questo conferma che l'OTA presente sulla superficie del budello non è stata in grado di penetrare all'interno del prodotto. Per i campioni analizzati viene dunque rispettato il limite della circolare ministeriale di 1 µg/kg.

È stato possibile verificare (Figura 5) che il contenuto di OTA nel budello viene ridotto tramite la spazzolatura, in media per il 60%, da un minimo di 30% ad un massimo di 93%.

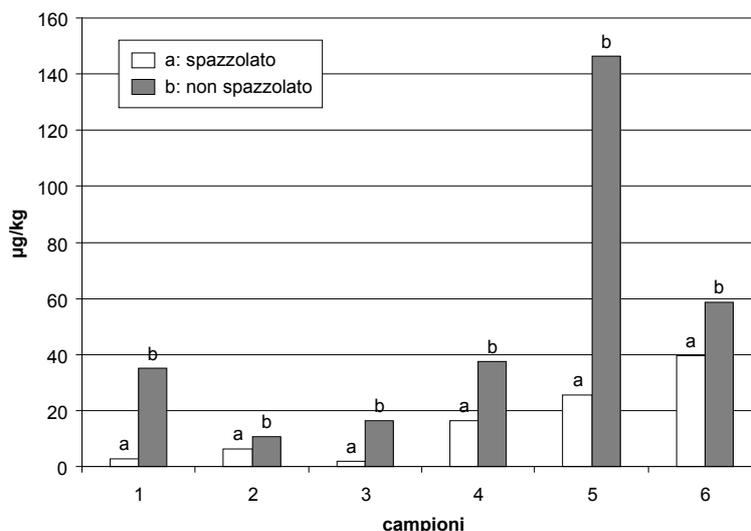


Figura 5. Concentrazione di Ota nei budelli spazzolati e non spazzolati

La variabilità del risultato dipende da diversi fattori:

- forma del salame: i salami sottoposti a spazzolatura avevano dimensioni e forme diverse, e la presenza di scanalature profonde può rendere più difficile la rimozione fisica dell'OTA da parte della delle spazzole.
- livello di contaminazione di partenza.
- manutenzione e pulizia delle spazzole.

Conclusioni

La spazzolatura a secco studiata in questa indagine del tutto preliminare ha fornito, per i motivi di cui sopra, risultati discontinui e meno efficaci della spazzolatura che utilizza anche un sistema di lavaggio ad acqua e aspirazione, oggetto di precedenti studi. Essa rappresenta comunque un economico metodo di decontaminazione da OTA, ma soltanto un accurato screening iniziale della contaminazione nei prodotti dell'azienda e la verifica dell'efficacia della spazzolatura nonché la pianificazione di cicli di lavaggio della macchina spazzolatrice possono garantire un elevato grado di abbattimento dell'OTA, laddove non si possa prevenire agendo sulle condizioni di umidità e temperatura nella fase di stagionatura.

Bibliografia

1. Ochratoxin A. In: *IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Vol. 56 Some naturally occurring substances: food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxin*. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 1993. p. 489-521.
2. Italia. 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

3. Chiavaro E, Lepiani A, Colla F, Bettoni P, Pari E, Spotti E. Ochratoxin A determination in ham by immunoaffinity clean-up and a quick fluorometric method. *Food additives and contaminants* 2002;19(6):575-81.

Ringraziamenti

Questo lavoro, condotto all'interno del progetto dal titolo "Innovazione per il Miglioramento dei Processi nell'Agroalimentare: Trasferimento Tecnologico e Organizzativo", è stato finanziato da Regione Lombardia e Unione Camere nell'ambito della convenzione artigianato. Si ringrazia il Dr. Merlo Alessandro-Agrimercati.

Si ringraziano inoltre la Fondazione Banca del Monte di Lombardia, nella persona del Presidente il dott. Aldo Poli, e la ditta "Safe Food" nelle persona del dott. Matteo Luppi.