



## AFLATOXINS AND FUMONISINS PREVALENCE IN CULTIVATED IN MAIZE GROWN IN MARCHE REGION (ITALY) - PREVALENZA DI AFLATOSSINE E FUMONISINE IN MAIS COLTIVATO NELLA REGIONE MARCHE

*Petruzzelli A., Sola D., Ambrosini B., Dorinzi A., Paniccià M., Bartozzi B., Moscatelli F., Rocchegiani E., Pezzotti G., Blasi G., Cenci T., Tonucci F.*

**Abstract.** Mycotoxins contaminating feeds may represent an health risk for animals but also for humans, through contaminated animal products. In the present study, the occurrence of mycotoxins (Aflatoxins and Fumonisin) in Maize produced in Marche region in 2008 has been investigated. The efficacy of possible control measures is discussed, in order to identify feasible corrective actions to be applied during field production.

**Riassunto.** La presenza di micotossine in alimenti ad uso zootecnico rappresenta un rischio per la salute degli animali e dell'uomo in quanto vi è la possibilità di contaminazione di alimenti derivati destinati all'alimentazione umana. In questo studio si è voluta determinare la prevalenza di micotossine (aflatossine e fumonisine) in mais prodotto nella regione Marche durante la campagna maidicola 2008 al fine di verificare la validità delle misure preventive messe in atto ed eventualmente proporre azioni correttive da applicare in campo per evitare lo sviluppo di tali metaboliti tossici.

### Introduzione

Negli ultimi anni il concetto di sicurezza alimentare si è progressivamente configurato come obiettivo primario dell'Unione Europea, ciò è dimostrato dalle numerose normative e linee di indirizzo che vengono di frequente emanate nel settore. Tra le questioni inerenti la sicurezza alimentare, una particolare enfasi è stata posta dal quadro normativo ad alcune specifiche problematiche, quali la presenza di micotossine negli alimenti destinati all'alimentazione zootecnica a garanzia della salute e benessere degli animali ma anche della tutela dei consumatori per il rischio di trasferimento di tali tossine dagli animali ai derivati destinati all'alimentazione umana. Le micotossine sono metaboliti secondari prodotti da funghi parassiti delle piante o agenti di ammuffimento delle derrate alimentari che possono indurre, se ingeriti dagli animali o dall'uomo, patologie acute o croniche note come micotossicosi. La produzione di micotossine può avvenire sia in fase di coltivazione, sia nelle successive operazioni di raccolta, conservazione, trasporto ed è influenzata ampiamente dalle condizioni climatiche e geografiche, dalle pratiche di coltivazione, di conservazione e dal tipo di substrato interessato in quanto alcuni prodotti sono più suscettibili rispetto ad altri alla crescita fungina (5).

I principali funghi tossigeni sono quelli appartenenti al genere *Fusarium*, produttori di tossine quali fumonisine, zearalenoni, tricoteceni e *Aspergillus* e *Penicillium*, produttori di aflatossine e ocratossine. Lo sviluppo dei *Fusarium* è favorito in campo da un andamento climatico piovoso, con temperature relativamente fresche nel periodo fioritura - raccolta del mais, mentre il genere *Aspergillus* è tipico di stagioni con elevate temperature, associate a condizioni di stress idrico della pianta (4).

I cereali, e in particolare il mais, sono tra i prodotti vegetali più soggetti alla contaminazione da parte di tali sostanze. L'86% del mais coltivato in Italia è impiegato per uso zootecnico. La granella di mais, in diverse forme fisiche (intera, farina, fioccata, estrusa ecc.) rappresenta, infatti, la fonte energetica per eccellenza delle diete ed è ampiamente impiegata sia nei monogastrici (suini, avicoli ecc.) che nei ruminanti (1).

In questo lavoro vengono presentati i risultati dell'applicazione di un piano di monitoraggio regionale finalizzato alla definizione della prevalenza di micotossine, in particolare aflatossine e fumonisine, in granella di mais coltivato nella regione Marche.

### Materiali e metodi

Il programma di monitoraggio ha previsto l'intervento di più istituzioni: Regione Marche (organizzazione del piano di monitoraggio e supervisione attività), Istituto Zooprofilattico Sperimentale Umbria - Marche (determinazioni analitiche, predisposizione modulistica, verifica dell'applicazione dei manuali di autocontrollo, coordinamento per la raccolta dei campioni, elaborazione dati, relazione finale degli esiti del presente programma di monitoraggio) e Centri di stoccaggio (raccolta dei campioni di mais secondo le indicazioni impartite dall'IZS UM).

Il campionamento delle partite di granella di mais è stato svolto presso i Centri di Stoccaggio delle quattro province marchigiane al momento del conferimento e dopo l'essiccazione.

In particolare sono stati individuati 11 Centri di stoccaggio/essiccazione cui affidare il campionamento: 8 nella provincia di Pesaro-Urbino, 1 nella provincia di Fermo, 1 in quella di Ancona e 1 in quella di Macerata. Complessivamente sono stati prelevati 120 campioni di granella di mais, 2 campioni di soia e 3 campioni di crusca suddivisi in 59 campioni prelevati al conferimento (entrata) e 66 campioni prelevati allo stoccaggio dopo l'essiccazione (uscita) (Tabella 1).

<b>Tab. 1: Campioni di mais in granella, soia e crusca: distribuzione per provincia e per tipologia di controllo</b>					
	<b>Pesaro - Urbino</b>	<b>Fermo</b>	<b>Ancona</b>	<b>Macerata</b>	<b>Totale</b>
<b>Conferimento (entrata)</b>	30	6	23	0	59
<b>Stoccaggio (uscita)</b>	51	0	5	10	67
<b>totale</b>	81	6	28	10	125

Il protocollo di campionamento ha previsto, per ogni singolo conferente, il prelievo casuale, durante lo scarico o dopo lo stoccaggio, di 20 campioni primari di circa 300 g che dopo essere stati miscelati accuratamente sono stati utilizzati per la composizione di un campione finale di circa 1 Kg.

Le specifiche relative ad ogni campione sono state riportate in un'apposita scheda anamnestica al fine di ottenere tutte le informazioni necessarie per la valutazione dei risultati finali. Tutti i campioni sono stati conservati a - 20 °C fino al momento delle analisi e successivamente sottoposti alla ricerca delle aflatossine e delle fumonisine mediante tecnica ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay), utilizzando il Kit ELISA RIDASCREEN Aflatoxin total e/o Fumonisine ® R-Biopharm.

### Risultati e discussione

I risultati relativi alle aflatossine sono stati rielaborati sulla base dei limiti di legge previsti dal Decreto Legislativo n. 149/2004 il quale fissa come limite di accettabilità di Aflatoxina B1, nelle materie prime per mangimi, un valore paria a 20 µg/Kg (ppb).

In particolare si è riscontrata la presenza di 10 (17%) campioni positivi per aflatossine ( $> 20 \mu\text{g}/\text{Kg}$ ) prelevati nella fase di raccolta e di 15 (23%) campioni prelevati dopo essiccazione (Grafico 1 e Grafico 2).

Probabilmente l'aumento delle positività dopo essiccazione non è indice di errata gestione della fase di stoccaggio, ma di controlli ripetuti su lotti risultati non conformi; tuttavia la percentuale di positività al conferimento evidenzia una situazione non proprio favorevole.

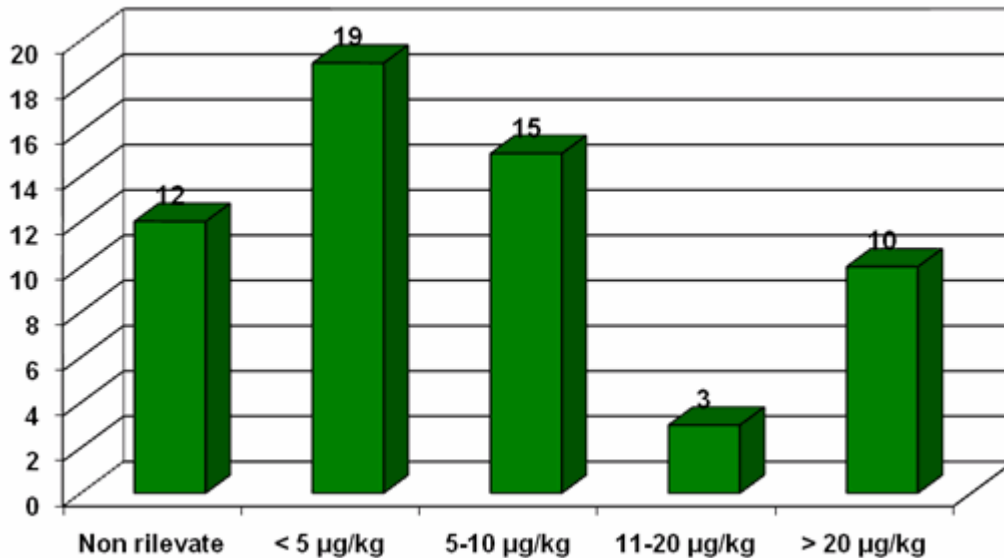


Grafico 1: Aflatossine al conferimento

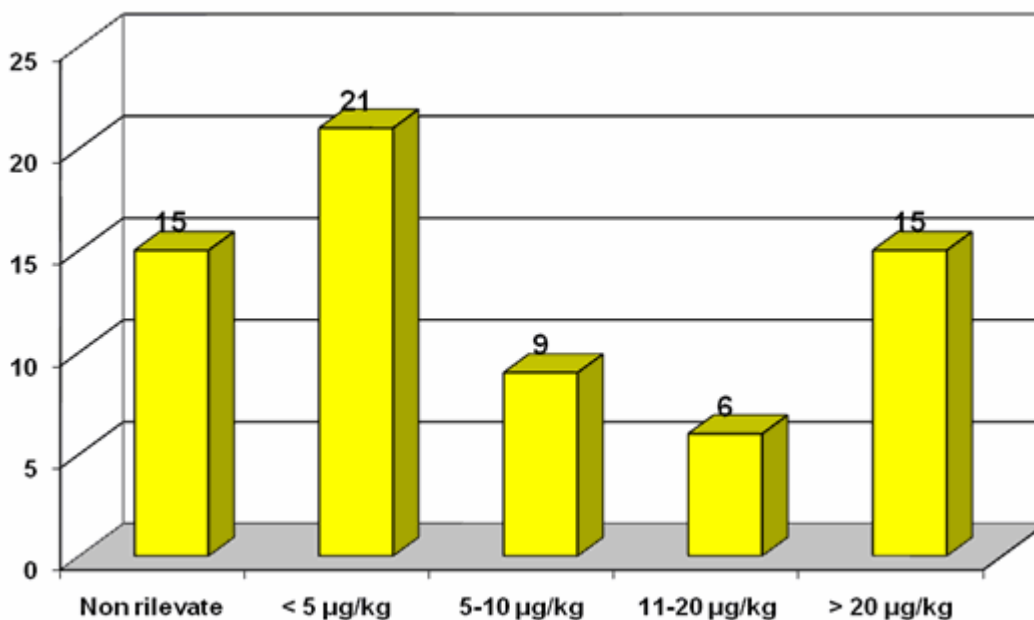


Grafico 2: Aflatossine dopo essiccazione

Per contro i risultati mostrano che 31 (53%) campioni prelevati nella fase di raccolta e 36 (55%) prelevati dopo essiccazione riportano tenori di aflatossine al di sotto di  $5 \mu\text{g}/\text{kg}$ , quindi decisamente inferiori al limite di legge. Relativamente alle fumonisine, i risultati sono stati rielaborati sulla base dei valori riportati nel Regolamento CE n. 1881/2006 e nella Raccomandazione n. 576/2006

applicati rispettivamente alle matrici destinate all'alimentazione umana (Tabella 2) e ad uso zootecnico (Tabella 3).

<b>Tab. 2: Limiti di legge per Fumonisine in prodotti destinati all'alimentazione umana</b>	
<b>Prodotto</b>	<b>Fumonisine (FB1 + FB2) Livelli massimi in mg/Kg (ppm)</b>
<b>a. Granoturco non trasformato</b>	2
<b>b. Farina e semola di granturco, granturco grits, germe di granturco e olio di mais raffinato</b>	1
<b>c. Alimenti a base di granturco per il consumo diretto eccetto il b ed il d</b>	0,4
<b>d. Alimenti a base di granturco e altri alimenti destinati ai lattanti e ai bambini</b>	0,2

<b>Tab. 3: Limiti di legge per Fumonisine in prodotti destinati all'alimentazione animale</b>	
<b>Prodotto</b>	<b>Fumonisine (FB1 + FB2) Valore di riferimento in mg/Kg (ppm) di mangime al tasso di umidità del 12%</b>
<b>Materie prime per mangimi: granturco e prodotti derivati</b>	60
<b>Mangimi complementari e completi per suini, equidi, conigli e animali da compagnia</b>	5
<b>Mangimi complementari e completi per pesci</b>	10
<b>Mangimi complementari e completi per pollame, vitelli (&lt; 4 mesi), agnelli e capretti</b>	20
<b>Mangimi complementari e completi per ruminanti adulti (&gt; 4 mesi) e visoni</b>	50

Il contenuto di Fumonisine è risultato superiore a 2 mg/kg (limite previsto per il consumo umano) per 44 (87%) campioni al conferimento e 38 (64%) campioni dopo essiccazione (Grafico3 e Grafico 4). Sono state, quindi, riscontrate condizioni sanitarie assolutamente sfavorevoli per il consumo umano diretto.

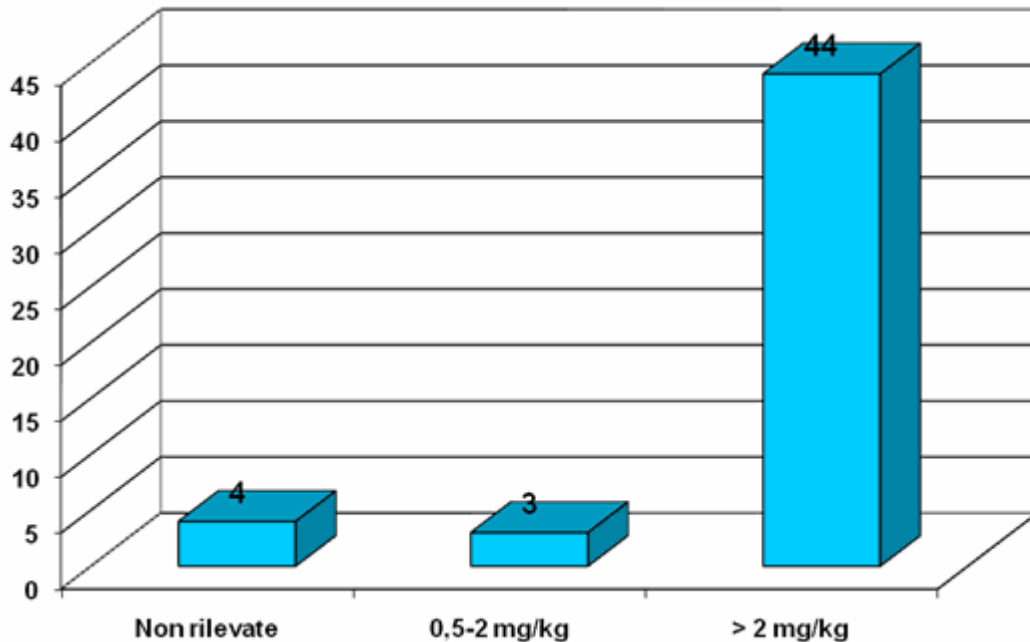


Grafico 3: Fumonisine al conferimento

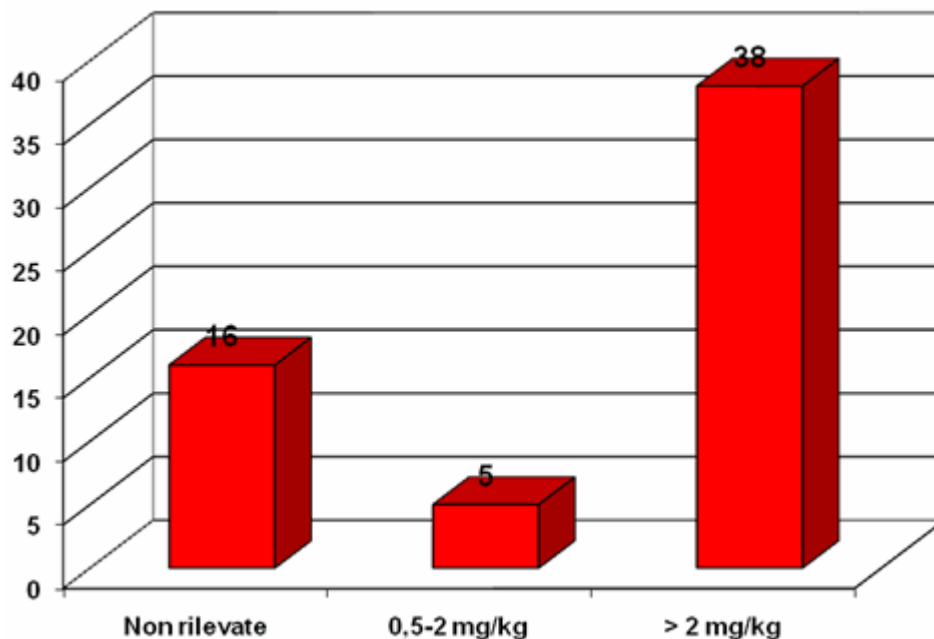


Grafico 4: Fumonisine dopo l'essiccazione

Rispetto al valore di riferimento di 60 mg/Kg, previsto dalla Raccomandazione n. 576/2006 per gli alimenti ad uso zootecnico, i risultati mostrano una situazione favorevole in quanto non sono stati

rilevati campioni non conformi dopo essiccazione e solo 5 (9,8%) campioni al conferimento sono risultati al di sopra dei limiti di tolleranza (Grafico 5).

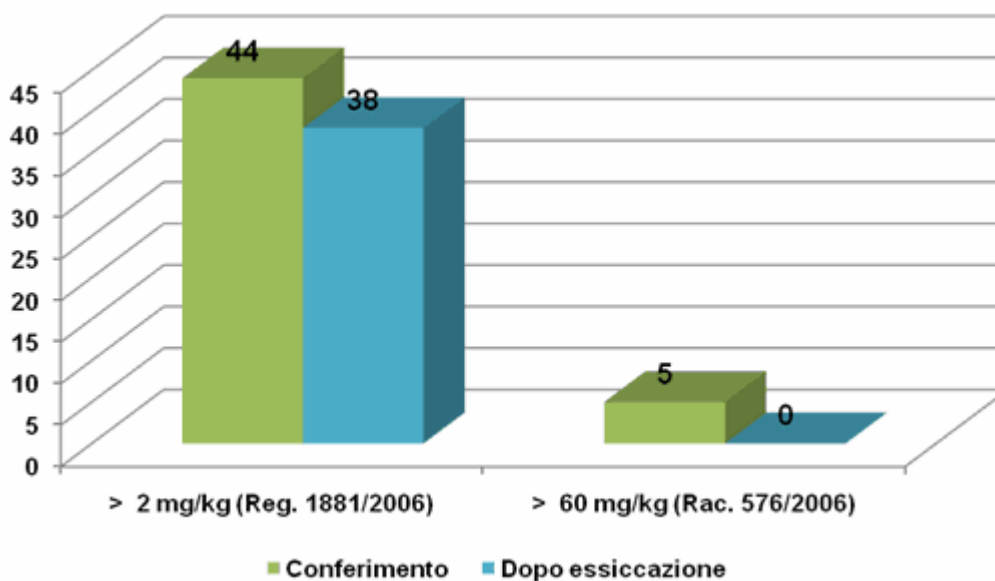


Grafico 5: Non conformità. Fumonisine secondo il Reg. 1881/2006 e la Rac. 576/2006

Sebbene l'indagine necessiti di ulteriori approfondimenti, dai dati relativi alle fumonisine riscontrate nei campioni prelevati, è possibile consigliare agli operatori del settore di destinare la produzione autoctona di mais della campagna maidicola 2008, all'alimentazione zootecnica con conseguente esclusione dall'alimentazione umana diretta.

Ciò è riconducibile alla limitata capacità di trasmissione delle fumonisine dai mangimi alla carne, al latte e alle uova e quindi ad un improbabile rischio di esposizione all'alimentazione umana di prodotti di origine animale contaminati.

Al momento della raccolta delle matrici di granella si è focalizzata anche l'attenzione sull'umidità relativa (U.R.), considerata fattore limitante per lo sviluppo delle micotossine; in particolare un'umidità superiore al 20-22% permette di contenere lo sviluppo di aflatossina B1 mentre per le fumonisine l'umidità non dovrebbe scendere al di sotto del 23%.

Mettendo in relazione i valori di U.R. con la presenza di aflatossine è possibile osservare che a valori percentuali compresi tra 20-23% si rileva la presenza di un solo campione con contenuto di aflatossine compreso tra 5-10 µg/kg e di 8 campioni con valori inferiori a 5 µg/kg (Grafico 6). Ciò conferma l'importanza dell'umidità (20-23%) come fattore limitante lo sviluppo di aflatossine in campo.

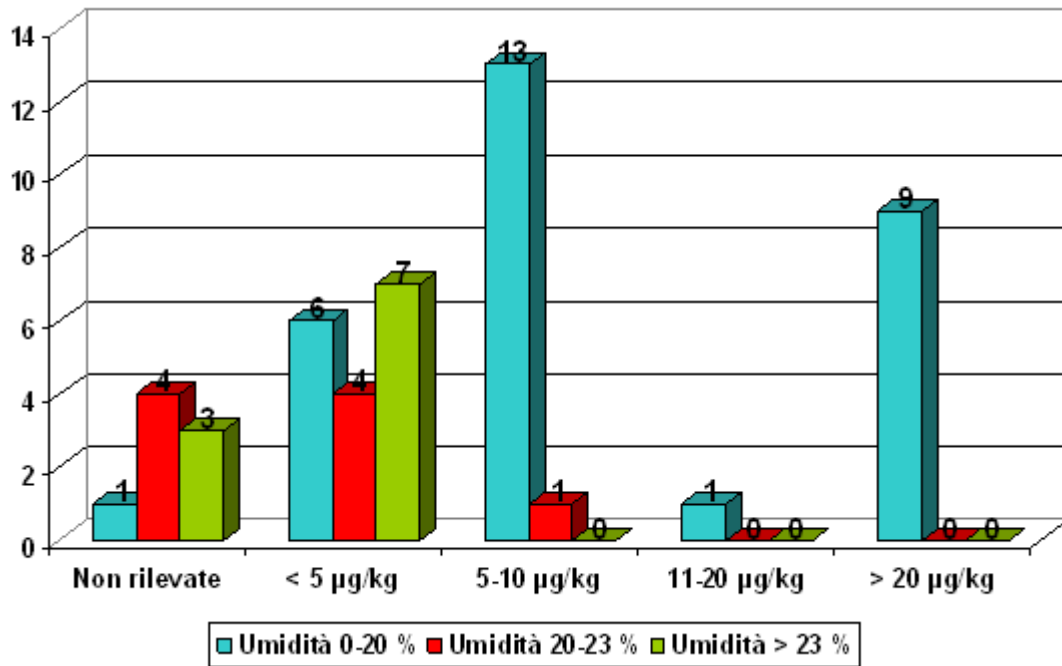


Grafico 6: Aflatossine al conferimento in correlazione con l'umidità

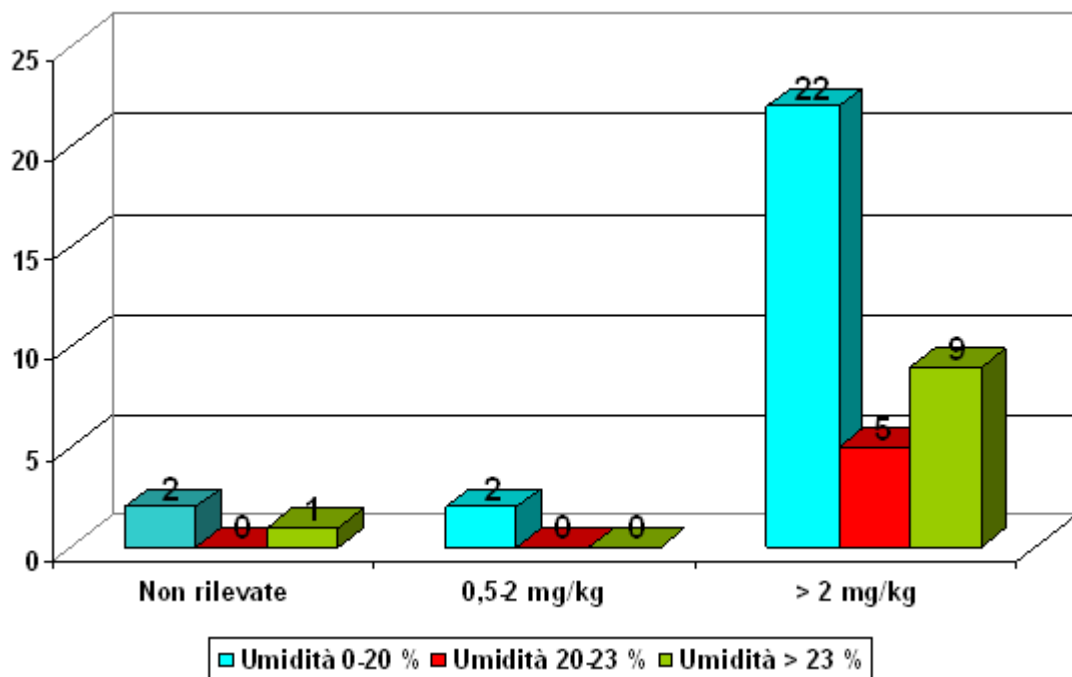


Grafico 7: Fumonisine al conferimento in correlazione con l'umidità

Relativamente alle fumonisine si rileva la presenza di 36 campioni con tenori superiori a 2 mg/Kg dei quali 22 a valori di U.R. compresi tra 0 e 20 % e 14 con U.R. pari a 20-23% e maggiori del 23% (Grafico7). Tali risultati evidenziano che per evitare lo sviluppo delle fumonisine, la granella deve essere trebbiata ad un tasso di umidità maggiore rispetto a quello consigliato per il controllo delle aflatossine.

## Conclusioni

Per ridurre il rischio di contaminazione da aflatoxine e fumonisine, diventa indispensabile applicare in campo le Buone Pratiche Agricole (BPA) come prima attività di prevenzione.

Le Buone Pratiche Agricole prevedono infatti un adeguato avvicendamento colturale, una pianificazione delle colture con semine tempestive caratterizzate da una adeguata densità di semina, l'interramento completo dei residui, l'irrigazione di soccorso nei periodi caldi, in particolare tra pre-fioritura e fecondazione, e comunque alla prima comparsa di sintomi da stress, la giusta concimazione, la difesa fitosanitaria con concia del seme con fungicidi e controllo della piralide, la raccolta della granella ad una umidità superiore al 23%, la riduzione dei tempi che intercorrono tra trebbiatura ed essiccazione e l'effettuazione dello stoccaggio in condizioni di umidità e temperature controllate.

Da tali considerazioni risulta necessario continuare il monitoraggio delle micotossine nel mais anche nei prossimi anni al fine di confermare la validità delle misure preventive messe in atto durante la fase di raccolta e stoccaggio e di sollecitare azioni correttive adeguate sul campo per evitare condizioni favorevoli alla formazione di tali metaboliti tossici.

## Bibliografia

- (1) Afuso F., Bailoni L., Bonino C., Causin R., De Liguoro M., Disegna L., Duso C., Furloan L., Gaspari E., Mosca G., Tealdo E., Vio P. 2006. "Mais e sicurezza alimentare". Pubblicazione edita da Veneto Agricoltura: 1-104.
- (2) Casiere A., Petruzzelli A., Pierotti C., Pezzotti G., Rocchegiani E., Paniccià M., Tonucci F "Presenza di micotossine nel mais prodotto nella provincia di Pesaro". VIII Congresso SIDILV. Perugia 9 - 10 novembre 2006: 69-70.
- (3) Gardner Hilarie D., Williams W. Paul, Windham Gary L. " Diallel analysis of aflatoxin accumulation in maize". 2007. Field Crops Research, Volume 102, Issue 1, 30: 60-63.
- (4) Le Schede di Agricoltura. "Micotossine nel Mais: la prevenzione in campo". 2008: 75-82.
- (5) Micotossine del Mais "Prevenzione e controllo" 2003. Supplemento al n 37 di "Quaderni della Regione Piemonte-Agricoltura".
- (6) Soriano J.M, Dragacci S. "Occurrence of fumonisins in foods". 2004. Food Research International, Volume 37, Issue 10: 985-1000.



Quest'opera è stata rilasciata sotto la licenza Creative Commons Attribuzione-Non commerciale 2.5 Italia. Per leggere una copia della licenza visita il sito web <http://creativecommons.org/licenses/by-nc/2.5/it/> o spedisci una lettera a Creative Commons, 171 Second Street, Suite 300, San Francisco, California, 94105, USA.

	<b>Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche, Via G. Salvemini 1. 06126, Perugia - Italy</b>
<b>Centralino Istituto</b>	Tel. +39 075 3431 - Fax. +39 075 35047
<b>Biblioteca</b>	Tel. / Fax +39 075 343217 e-mail: <a href="mailto:bie@izsum.it">bie@izsum.it</a>
<b>Rivista SPVet.it</b> ISSN 1592-1581	Tel. +39 075 343207 e-mail: <a href="mailto:editoria@izsum.it">editoria@izsum.it</a> <a href="http://spvet.it/">http://spvet.it/</a> / <a href="http://indice.spvet.it">http://indice.spvet.it</a>
<b>U. R. P.</b>	Tel. +39 075 343223; Fax: +39 075 343289 e-mail: <a href="mailto:URP@izsum.it">URP@izsum.it</a>