

Sviluppo di metodi per la "early detection" di funghi tossigeni in matrici alimentari

C. Nobili, A. Del Fiore, P. De Rossi, V. Tolaini

La qualità di un prodotto alimentare viene intesa, oltre che come idoneità al consumo per il possesso di requisiti igienici, anche per la presenza di caratteristiche di pregio e di eccellenza sul piano chimico, fisico e sensoriale, in un mercato sempre più attento alle richieste del moderno consumatore esigente ed informato.

Le contaminazioni fungine rappresentano una delle principali problematiche in campo alimentare; esse determinano, nelle materie prime e nei prodotti trasformati, alterazioni sensoriali e, in alcuni casi, anche la produzione di micotossine. Tutto ciò, oltre a comportare la perdita fino al 70% della produzione, costituisce anche una fonte di rischio per la salute umana ed animale. Diverse specie fungine contaminanti sintetizzano infatti, in particolari situazioni ambientali, alcuni metaboliti

secondari a basso peso molecolare ed elevata stabilità chimica, le micotossine, che possono determinare intossicazioni acute o croniche a seconda della loro tossicità. Le micotossicosi sono legate principalmente al consumo di alimenti contaminati da funghi tossigeni. La presenza di muffe su una matrice alimentare è indice di potenziale contaminazione da micotossine, tuttavia l'assenza del fungo non garantisce che nell'alimento non siano presenti le micotossine (Figura 1).

Lo sviluppo di muffe tossigene e la successiva possibile sintesi dei metaboliti tossici può avvenire in qualsiasi fase della filiera del ciclo produttivo dell'alimento, dalla coltivazione allo stoccaggio ed alla trasformazione, fino al consumo. Le micotossine, infatti, sono molto resistenti al calore e non vengono completamente distrutte

dalle normali operazioni di cottura, né dai diversi trattamenti a cui sono normalmente sottoposte le matrici durante i processi di preparazione degli alimenti. Tali molecole possono giungere alla nostra tavola sia attraverso il consumo di ingredienti di origine vegetale contaminati, sia per ingestione di prodotti di origine animale (latte vaccino, formaggi, uova, carni), derivanti da bestiame alimentato con mangime contaminato (fenomeno del "carry-over").

In questo panorama, la necessità di garantire un sistema alimentare affidabile e rispondente alle aspettative dei consumatori e l'esigenza di adeguarsi alle norme europee (Regolamento (CE) n. 1831/2003 e Regolamento (CE) n. 1126/2007) danno impulso allo sviluppo di sistemi e dispositivi di indagine innovativi ed avanzati. Per realizzare un rilevamento tempestivo della presenza di funghi tossigeni, prima che questi possano danneggiare la matrice vegetale e produrre micotossine

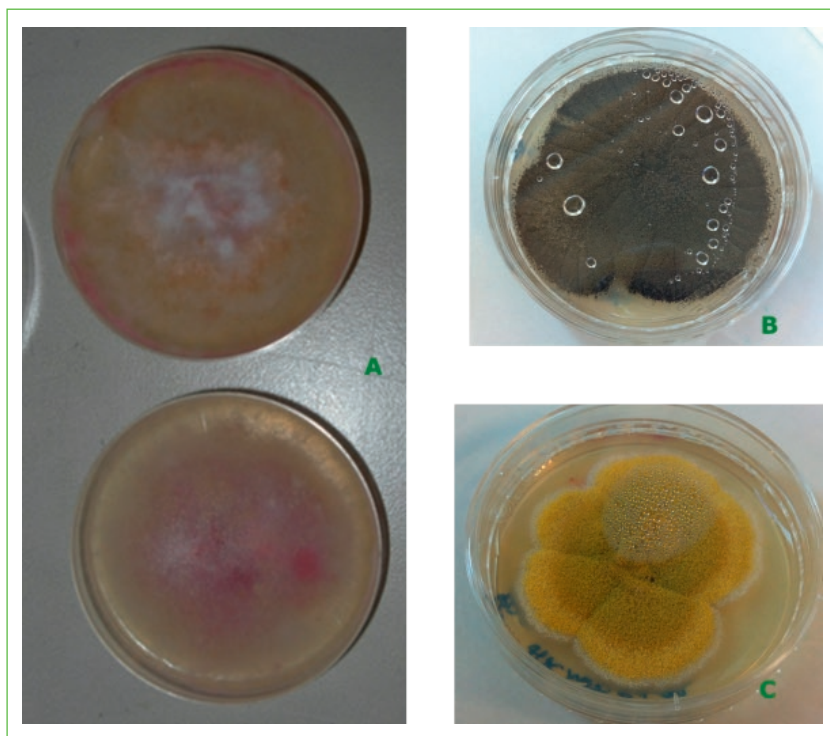


Figura 1
Funghi tossigeni. A: *Fusarium graminearum*; B: *Aspergillus carbonarius*;
C: *Aspergillus flavus*

è fondamentale poter disporre di test rapidi e affidabili, quali ad esempio le tecniche molecolari basate sulla determinazione e quantificazione del DNA fungino presente. Tra queste la più diffusa ed utilizzata è la “Polymerase Chain Reaction” (PCR), messa a punto da Kary Mullis nel 1980: un processo ciclico che consente di amplificare e moltiplicare una sequenza genica bersaglio, utilizzando apposti inneschi molecolari (“primers”) opportunamente individuati. I protocolli di amplificazione permettono di ottenere risultati accurati e di raggiungere elevati livelli di sensibilità. Tali metodiche rappresentano un’interessante alternativa ai sistemi classici di coltivazione ed osservazione dei caratteri morfologici (che richiedono tempi lunghi e personale specializzato), non solo per l’elevata sensibilità, la specificità e la ripetibilità, ma anche per l’assenza di variabilità legata al ciclo di sviluppo dell’organismo da identificare ed all’ambiente circostante.

Le attività condotte nella Divisione Biotecnologie e agroindustria dell’ENEA inerenti allo sviluppo di metodologie diagnostiche avanzate (descritte nel rapporto tecnico dell’ENEA RT/2010/29), condotte anche nell’ambito di progetti scientifici, hanno consentito di sviluppare metodi molecolari per una rilevazione rapida e precoce della presenza dei funghi tossigeni su cereali e prodotti ortofrutticoli. In particolare, la loro determinazione precoce nella frutta è stata oggetto della sperimentazione nell’ambito del progetto “ORTOFRU-LOG - Piattaforma logistica innovativa per le produzioni ortofrutticole nazionali destinate ai mercati interni ed esteri”, finanziato dal Ministero dello Sviluppo Economico mediante il Programma Industria 2015, Bando Nuove Tecnologie per il *Made in Italy*. In questo progetto che ha coinvolto anche partner industriali, hanno tro-



Figura 2
Frutta contaminata

vato collocazione le attività del laboratorio riguardanti la ricerca, la progettazione e lo sviluppo sperimentale di protocolli analitici biomolecolari per il rilevamento di miceti patogeni (PCR, PCR Real-Time) e micotossine (HPLC) in prodotti ortofrutticoli quali mandarini, fragole e uva (Figura 2).

Le tecniche diagnostiche descritte, permettendo di individuare la presenza del fungo in tempi precoci, quando altri metodi ispettivi non lo consentono, possono dare un contributo concreto al controllo della contaminazione fungina ed alla prevenzione di eventuale sintesi di micotossine. Per questo motivo, tali tecniche potrebbero essere impiegate come routinarie per il rilevamento precoce (*early detection*) del fungo su scala commerciale in diverse fasi del ciclo produttivo, dalla raccolta del cereale, allo stoccaggio delle cariossidi, alla lavorazione delle farine, fino al controllo dei prodotti trasformati.

Per approfondimenti: chiara.nobili@enea.it

Chiara Nobili, Antonella Del Fiore, Patrizia De Rossi, Valentina Tolaini
ENEA, Divisione Biotecnologie e agroindustria