

Studio sulla contaminazione da Aflatossina M1, Aflatossicolico e Sterigmatocistina nei formaggi ovis, caprini e bufalini ai fini della valutazione dell'esposizione per il consumatore.

Domenico Mariagiovanna¹, D'Onofrio Valentina¹, Sanna Andrea¹, Sdogati Stefano², Pecorelli Ivan³, Dimarco Pisciotto Ilaria³, Lambiase Sara³, Gallo Pasquale³, Massafra Stefania⁴, Torres Elena⁴, Gili Marilena⁴, Vella Antonio⁵, Condoleo Roberto⁴, Militello Guglielmo⁴, Cossu Maurizio⁶, Iulietto Maria Francesca⁴, Boselli Carlo¹

¹ Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana, Via Appia Nuova, 1411 - 00178 Roma; ² Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche, Via G. Salvemini, 1 - 06126 Perugia
³ Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Mezzogiorno, Via Salute, 2 - 80055 Portici (Napoli); ⁴ Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, Via Bologna, 148 - 10154 Torino
⁵ Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia, Via Gino Marinuzzi, 3 - 90129 Palermo; ⁶ Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sardegna, Via Duca degli Abruzzi, 8 - 07100 Sassari.

Introduzione e scopo della ricerca

L'Aflatossina M₁ (AFM₁) e l'Aflatossicolico (AFL), classificati dalla IARC nel gruppo 1A, e la Sterigmatocistina (STC), nel gruppo 2B, sono tre micotossine che possono essere presenti nel latte e, per effetto della tecnica di lavorazione e della eventuale stagionatura, concentrarsi nei prodotti della caseificazione (formaggi e ricotta). Gli obiettivi della ricerca (PS 01/21), prevedevano:
A. lo sviluppo, la validazione e l'applicazione di un metodo analitico (LC-MS/MS) in grado di rilevare la presenza di queste 3 micotossine nei prodotti della caseificazione e derivati del siero da latte ovino, caprino e bufalino;
B. determinare il Fattore di Concentrazione (FC) nei prodotti della caseificazione ottenuti da latte naturalmente contaminato da AFM₁;
C. valutare l'esposizione del consumatore attraverso la via alimentare.

Metodologia

A. Messa a punto della metodica di rilevazione: sono state impiegate colonnine di immunoaffinità elettive per AFM₁, AFL e STC, e standard interni marcati isotopicamente (ILIS). L'analisi strumentale, per ottenere un metodo validato per la determinazione simultanea delle 3 micotossine, prevedeva una separazione cromatografica HPLC con rilevazione in spettrometria di massa, in modalità MRM (Cossu et al., 2025).
B. Determinazione FC: durante le attività di routine 2021-2023 per la determinazione di AFM₁ presso IGA CIP, sono stati individuati allevamenti con presenza di AFM₁ nel latte di massa. Da questi sono stati raccolti 20 campioni di latte naturalmente contaminato (bufalino:11, ovino:6, caprino:3), da cui sono stati ottenuti tramite micro-caseificazioni sperimentali dei formaggi e derivati del siero su cui sono state ricercate AFM₁, AFL e STC. FC è stato calcolato come rapporto (%) tra la concentrazione di AFM₁ e STC (se presente) nel formaggio e nel latte di partenza.
C. Esposizione attraverso la via alimentare: 440 campioni di formaggi e derivati del siero, collezionati dalla GDO e da caseifici (ovino:186, caprino:149, bufalino:105) ubicati nelle regioni dove risiedevano le UUOO partecipanti al progetto. Su questi campioni è stata ricercata la presenza di AFM₁, AFL e STC. Utilizzando il Margin Of Exposure (MOE), considerando solo il consumo di formaggi realizzati con latte delle specie selezionate ed un livello medio di contaminazione, si è stabilita la soglia di "concern".

Risultati

A. Messa a punto della metodica di rilevazione: la metodica di rilevazione simultanea delle 3 micotossine, ha evidenziato performance ottimali in termini di recupero (range 95-103%), LOD (range 0,2-1,0 ng/kg) e LOQ (range 1,0-5,0 ng/kg).
B. Fattore di concentrazione: in tabella sono riportati i valori FC per AFM₁ rilevati nei prodotti a base di latte di bufala, ovino e caprino, inclusa l'acqua di filatura della mozzarella di bufala. Per i prodotti a base di latte di bufala è stato valutato anche FC per la STC.
C. Esposizione attraverso la via alimentare: AFM₁ e STC, con concentrazione > al LOD, sono state rilevate in circa metà dei campioni (AFM₁: 224; STC: 231). AFL non è mai stato ritrovato al di sopra del LOD. Utilizzando il MOE, i risultati hanno mostrato valori inferiori alla soglia di 10.000, che viene considerata la soglia di "concern".

PRODOTTO	FC AFM ₁
Mozzarella bufala	2,20 ± 0,50
Ricotta bufala	1,11 ± 0,37
Acqua filatura bufala	0,24 ± 0,09
Formaggio pecora fresco	2,94 ± 0,79
Formaggio pecora stagionato 90 gg	4,41 ± 3,07
Ricotta pecora	1,27 ± 0,58
Formaggio capra fresco	3,19 ± 0,69
Formaggio capra stagionato 30 gg	4,54 ± 0,57
Ricotta capra	1,02 ± 0,9

PRODOTTO	FC STC
Mozzarella bufala	6,10 ± 7,66
Ricotta bufala	2,75 ± 3,00
Acqua filatura bufala	1,88 ± 2,08

Tabella 1 e 2. Fattori di concentrazione per AFM₁ ed STC nei differenti prodotti esaminati.

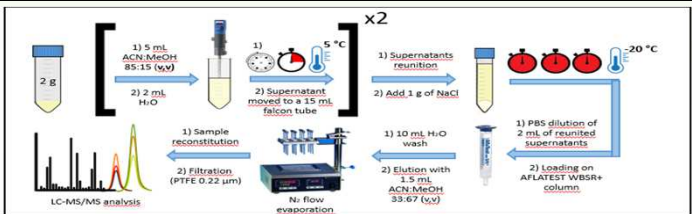


Figura 1. Preparazione del campione.

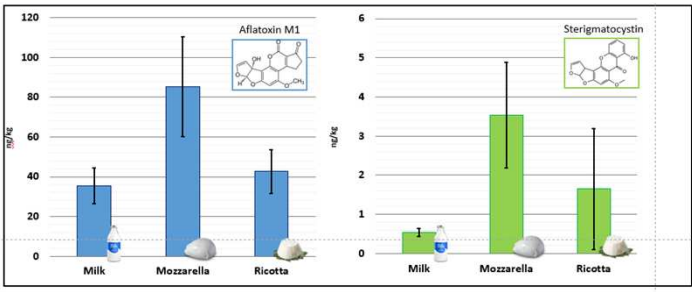


Figura 2. Livelli di AFM₁ e STC in latte, mozzarella e ricotta di bufala.

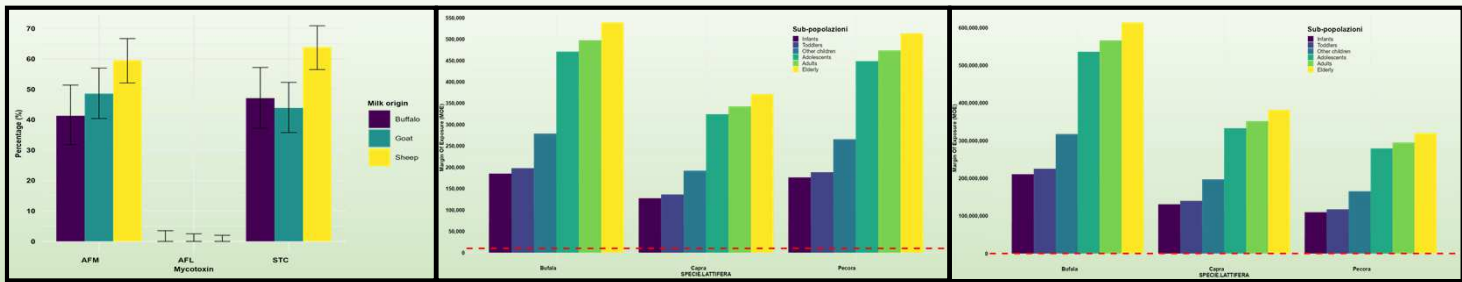


Figura 3. Percentuale di campioni di formaggio prelevati al dettaglio risultati contaminati (> LOD) per specie (sinistra), MOE per AFM₁ (centro) ed STC (destra) considerando le diverse sub-popolazioni attraverso il consumo di formaggio di bufala considerando valori medi di concentrazione nel prodotto, valori Upper bounds ed un consumo medio di formaggio. Linea rossa = MOE al livello 10,000 («limit of concern»)

Discussione e Conclusioni

La gestione e la mitigazione del rischio legato all'esposizione di AFM₁ e STC è un interesse per gli attori della filiera e per le autorità preposte al Controllo Ufficiale. I livelli ritrovati in questo studio rientrano nei limiti massimi di legge. Il valore FC trovato è simile a quello riportato in letteratura ed al valore proposto dal Ministero della Salute Italiano (FC = 3.0) per i formaggi a pasta molle (mozzarella, ricotta, etc.). STC è stata ritrovata solo in basse concentrazioni ed AFL mai trovata. STC è stata rilevata nella parte esterna dei formaggi analizzati ad elevate concentrazioni, verosimilmente da contaminazione secondaria durante le fasi di conservazione e stagionatura. I dati ottenuti mostrano livelli di concentrazione complessivamente inferiori a quelli rilevati per la specie bovina a livello internazionale mentre gli scenari simulati per valutare l'esposizione sembrano dimostrare un certo margine di sicurezza.

Ricerca Strategica PS 01/21 realizzata con contributo del Ministero della Salute

Bibliografia

1. IARC monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to man. (1972)1987). Lyon: International Agency for Research on Cancer.
2. Cossu M, Sanna A, Mangano G, Ledda G, Chessa G, Gallo P, Vella A, Pecorelli I, Sdogati S, Gili M, Boselli C. Emerging Mycotoxins in Cheese: Simultaneous Analysis of Aflatoxin M1, Aflatoxicol, and Sterigmatocystin by LC-MS/MS. Molecules. 2025 Apr 15;30(8):1774. doi: 10.3390/molecules30081774