

LUCIA BAILONI*, AMEDEO PIETRI**, ANTONIO GALLO**,
FRANCESCO MASOERO**, GIANFRANCO PIVA***

Le aflatossine nelle filiere agro-alimentari: dal feed al food

PREMESSA

La contaminazione da aflatossine (AF) degli alimenti zootecnici deve essere considerata sia dal punto di vista degli effetti diretti che la loro ingestione può avere sulla salute, sul benessere e sulle performance degli animali (De Liguoro, 2006; Piva et al., 2009) che, indirettamente, dal punto di vista della sicurezza alimentare dei prodotti di origine animale consumati dall'uomo (Bailoni, 2006; Piva et al., 2009). Obiettivo di questo lavoro è quello di i) valutare la contaminazione delle materie prime e dei mangimi composti ottenuti nell'annata agraria 2012, ii) comprendere i meccanismi che regolano il trasferimento delle AF dal feed al food, nonché i fattori in grado di influenzare il carry-over, iii) descrivere i principali metodi di detossificazione e di decontaminazione che possono o potranno essere utilizzati nel futuro per ottenere alimenti più sani per gli animali, iv) fornire indicazioni sull'efficacia delle sostanze in grado di ridurre la contaminazione e l'assorbimento dell'aflatossina o modificarne le modalità di azione.

I. LA CONTAMINAZIONE DA AFLATOSSINE DELLE MATERIE PRIME E DEI MANGIMI

Molte delle materie prime di origine vegetale prodotte in azienda e acquistate direttamente dagli allevatori per l'alimentazione degli animali da reddito oppure impiegate dall'industria mangimistica per la preparazione di mangimi

* *Dipartimento di Medicina Comparata e Alimentazione, Università di Padova*

** *Istituto di Scienze degli Alimenti e della Nutrizione, Università Cattolica del Sacro Cuore*

*** *Presidente Com. Scientifico Agrisystem, UCSC, Piacenza*

ALIMENTO	RISCHIO
Arachide e derivati	Medio o elevato
Cocco pannello	Medio o elevato
Palma pannello	Medio o elevato
Lino pannello	Medio o elevato
Granella/farina di mais	Medio o elevato
Corn gluten feed	Medio o elevato
Semola glutinata di mais	Medio o elevato
Farina estrazione germe di mais	Medio o elevato
Semi di cotone e derivati (panello)	Possibile
Pastone di mais	Possibile
Insilato di mais	Modesto – possibile
Orzo, frumento, altri cereali	Trascurabile
Fieni, foraggi verdi	Trascurabile
Soia	Trascurabile
Crusca	Trascurabile

Schema 1 *Alimenti zootecnici a più alto rischio di contaminazione da aflatossine*

completi/complementari e premiscele possono presentare livelli più o meno gravi di contaminazione da AF. Il mais e i derivati del mais (glutine, semola glutinata ecc.) si collocano fra le materie prime a più alto rischio di contaminazione (Piva et al., 2006).

Fra gli alimenti con grado di rischio medio-elevato (schema 1), il mais è sicuramente quello più utilizzato nell'alimentazione zootecnica. Dalle stime fornite da ASSALZOO (2012) la produzione nazionale di mais nel 2010 è risultata pari a 8.566.182 t (pari al 50% del totale dei cereali prodotti in Italia); inoltre sono state importate poco più di 2 milioni di t a fronte di una esportazione di poco più di 100.000 t. Una percentuale pari all'80.2% del mais disponibile a livello nazionale è stata destinata nel 2010 all'alimentazione zootecnica mentre la quota rimanente è stata utilizzata per altre finalità (alimenti per l'uomo e derivati industriali). Il mais viene impiegato nella preparazione dei mangimi in quote variabili dal 5 al 60% in funzione della specie animale, come evidenziato da Piva et al. (2009), ma può raggiungere valori anche più elevati quando è ottenuto a livello aziendale ed è incluso direttamente nelle razioni in allevamento, come granella intera o sottoposta a vari trattamenti fisici (farine, fiocchi, estrusi) oppure come insilato della pianta intera (silomais) o di parti della pianta (pastone di pannocchia, di granella ecc.).

In tabella 1 si riportano i risultati di contaminazione da aflatossina B1 (AFB1) ottenuti presso il laboratorio accreditato (Accredia, certificato n. 0655 del 03/03/2006) dell'Associazione Regionale Allevatori del Veneto (De Paoli, 2013), su campioni di autocontrollo per la verifica della

TIPOLOGIA DI ALIMENTO	CAMPIONI ANALIZZATI (n.)	CONTENUTO MEDIO DI AFB1 (µg/kg)	CAMPIONI POSITIVI > 5 µg/kg (n.)	CAMPIONI POSITIVI > 5 µg/kg (%)	CAMPIONI POSITIVI > 20 µg/kg (n.)	CAMPIONI POSITIVI > 20 µg/kg (%)
Mais farina/granella	646	34,3	378	58,5	230	35,6
Mais Insilato	404	2,8	39	9,7	6	1,5
Mais pastone	222	18,87	103	46,4	54	24,3
Mangime complementare	149	3,7	31	20,8	3	2,0
Cotone seme	45	8,7	12	26,7	5	11,1
Unifeed (razione completa)	25	3,3	7	28,0	0	0,0
Orzo farina	10	0	0	0,0	0	0,0
Soia farina di estrazione	8	0,25	0	0,0	0	0,0
Sorgo insilato	5	0	0	0,0	0	0,0
Altri alimenti zootecnici	79	4.2	11	13.9	6	7.6

Tab. 1 *Livelli di contaminazione da AFB1 in campioni di alimenti zootecnici (De Paoli, 2013)*

qualità degli alimenti di interesse zootecnico. Pur non essendo questo un campione statisticamente rappresentativo della realtà veneta, l'elevata numerosità di analisi realizzate a partire dal 25/08/2012 fino al 18/02/2013 consente di effettuare alcune considerazioni interessanti sul livello di contaminazione degli alimenti presenti nelle aziende zootecniche del Veneto, che risulta la regione nella quale si sono registrate, accanto alle maggiori perdite economiche dovute alla siccità, anche elevate contaminazioni da AFB1 nel mais (come riportato nel lavoro di Pasti nel presente volume, a cui si rimanda).

In tabella 1 sono riportati due diversi livelli di “positività” considerando in primo luogo i 5 µg/kg di AFB1 che riguardano i “mangimi composti per bovini da latte e vitelli, ovini da latte e agnelli, caprini da latte e capretti, suinetti e pollame giovane” e i 20 µg/kg di AFB1 che sono indicati sia per le “materie prime per mangimi” che per “i mangimi composti per bovini (eccetto bovini da latte e vitelli), ovini (eccetto ovini da latte e agnelli), caprini (eccetto caprini da latte e capretti), suini (eccetto suinetti) e pollame (eccetto pollame giovane)” secondo quanto riportato dal Regolamento UE 574/2011 (vedi lavoro Brera e Guarino di questo volume).

Partendo dalla granella o farina di mais presente in allevamento (tab. 1), sia di origine aziendale che acquistata sul mercato, si può osservare come più di un terzo (35.6%) dei campioni sottoposti ad analisi sia risultato “non conforme” per l’alimentazione animale, concordando con le evidenze ottenute da altre fonti sul livello di contaminazione da AFB1 del mais della campagna 2012 (vedi lavoro Pasti del presente volume).

Riguardo alla presenza di AFB1 nel silomais e nel pastone di mais (sia di granella che di pannocchia), emerge, come atteso, un livello di contaminazione più alto nel pastone, dove la granella rappresenta la componente quantitativamente più importante della massa insilata rispetto all’insilato della pianta intera di mais (dove ovviamente si crea un effetto “diluizione”); solo l’1.5% degli oltre 400 campioni di silomais analizzati sono da ritenersi “fuori norma” mentre per il pastone quasi un quarto dei 222 campioni analizzati risulta al di sopra del limite consentito dalla legge (tab. 1). Più in generale, riguardo agli insilati va ricordato che i processi che avvengono nella massa durante il processo di fermentazione creano generalmente condizioni ambientali poco favorevoli (anaerobiosi, pH basso) allo sviluppo di funghi filamentosi produttori di aflatossine, come l’*Aspergillus flavus* (Scudamore e Livesey, 1998; Boreani et al., 2003). La contaminazione degli insilati di mais dipende molto dalla contaminazione ante insilamento, che si riduce anticipando la raccolta del trinciato nelle annate particolarmente a rischio.

Per i mangimi composti complementari (tab. 1) non sempre è stato possibile identificare, al momento della consegna al laboratorio, la destinazione dell’alimento; se si considera il limite più restrittivo (mangimi composti/complementari per animali da latte e giovani) si può osservare una percentuale di campioni superiore al 23% di mangimi composti/complementari non conformi mentre se si considera il limite di AFB1 più ampio (20 µg/kg), la percentuale scende drasticamente al 2%. In un’indagine condotta da Cinti et al. (2006) a livello nazionale su 42 mangimifici, nel triennio 2003-2005, è emerso che, nei mangimi per lattifere, solo pochi campioni (7.6% con un valore medio di 7.9 µg/kg) hanno superato analiticamente il limite di 5 µg/kg nel 2003, annata molto critica per le condizioni climatiche e, per alcuni aspetti, comparabile a quella del 2012.

In riferimento invece alle altre materie prime riportate in tabella 1, si conferma quanto osservato nello schema 1 riguardo agli alimenti zootecnici a rischio: i cereali diversi dal mais (orzo e sorgo), e la farina di estrazione di soia (principale fonte proteica nelle razioni per tutte le specie da reddito) non destano preoccupazioni per la contaminazione da AFB1. Fa eccezione il cotone che invece si colloca fra le prime fonti ad alto rischio e, anche nel campione

analizzato, pur non elevato in termini di numerosità, questa posizione sembra confermata.

2. II TRASFERIMENTO DELLE AFLATOSSINE DAGLI ALIMENTI AI PRODOTTI DI ORIGINE ANIMALE

2.1 *Effetto delle aflatossine sui ruminanti e monogastrici*

I ruminanti sono considerati meno suscettibili dei monogastrici agli effetti negativi conseguenti l'ingestione delle micotossine, in quanto il comparto rumine-reticolare è in grado di modificare la struttura delle micotossine convertendola in metaboliti meno tossici per l'animale (es. tossina T-2 in vari metaboliti, ocrtaossina A in ocratossina α , DON in DOM-1; Fink-Gremmels, 2008) o di legare le micotossine a dei composti in esso presenti rendendole non disponibili per l'animale (es. clorofille, strutture porfiriniche e pareti di batteri e lieviti) (Yiannikouris e Jouany, 2002; Diaz e Smith, 2005). Nel caso delle aflatossine, il meccanismo di protezione ruminale è ascrivibile quasi esclusivamente al sequestro della tossina, in quanto le molecole madri (es: AFB1) vengono trasformate in metaboliti come l'aflatossicolo, che presenta un grado di tossicità e cancerogenicità per l'animale uguale alle molecole di partenza (Cast, 2003; Moschini et al., 2008). Inoltre, il processo di conversione dell'AFB1 ad aflatossicolo avviene nelle due direzioni.

Un altro aspetto alla base della bassa efficienza di protezione del rumine nei confronti dell'AFB1 è il rapido assorbimento con cui queste tossine passano dal tratto gastro-intestinale al circolo ematico. In particolare, il basso peso molecolare e le caratteristiche lipofile della molecola delle aflatossine suggeriscono che il meccanismo alla base dell'assorbimento di queste tossine sia la diffusione passiva (Yiannikouris e Jouany, 2002). Diversi autori hanno riportato che l'assorbimento dell'AFB1 attraverso i tessuti dell'organismo avviene rapidamente (Polan et al., 1974; Trucksess et al., 1983; Coulombe, 1993; Hies and Wong, 1994). Tali aspetti sono stati confermati e approfonditi da prove condotte presso l'Istituto di Scienze degli Alimenti e della Nutrizione di Piacenza (Moschini et al., 2007; Gallo et al., 2008), che hanno evidenziato come le aflatossine madri (AFB1, AFB2, AFG1, AFG2) e i loro metaboliti (AFM1), compaiono nel plasma dopo appena 5 minuti dalla somministrazione degli alimenti contaminati (fig. 1). La rapidità con la quale avviene l'assorbimento e la loro metabolizzazione è legata a un passaggio delle molecole che si verifica già a livello della bocca, dell'esofago e solo successivamente del

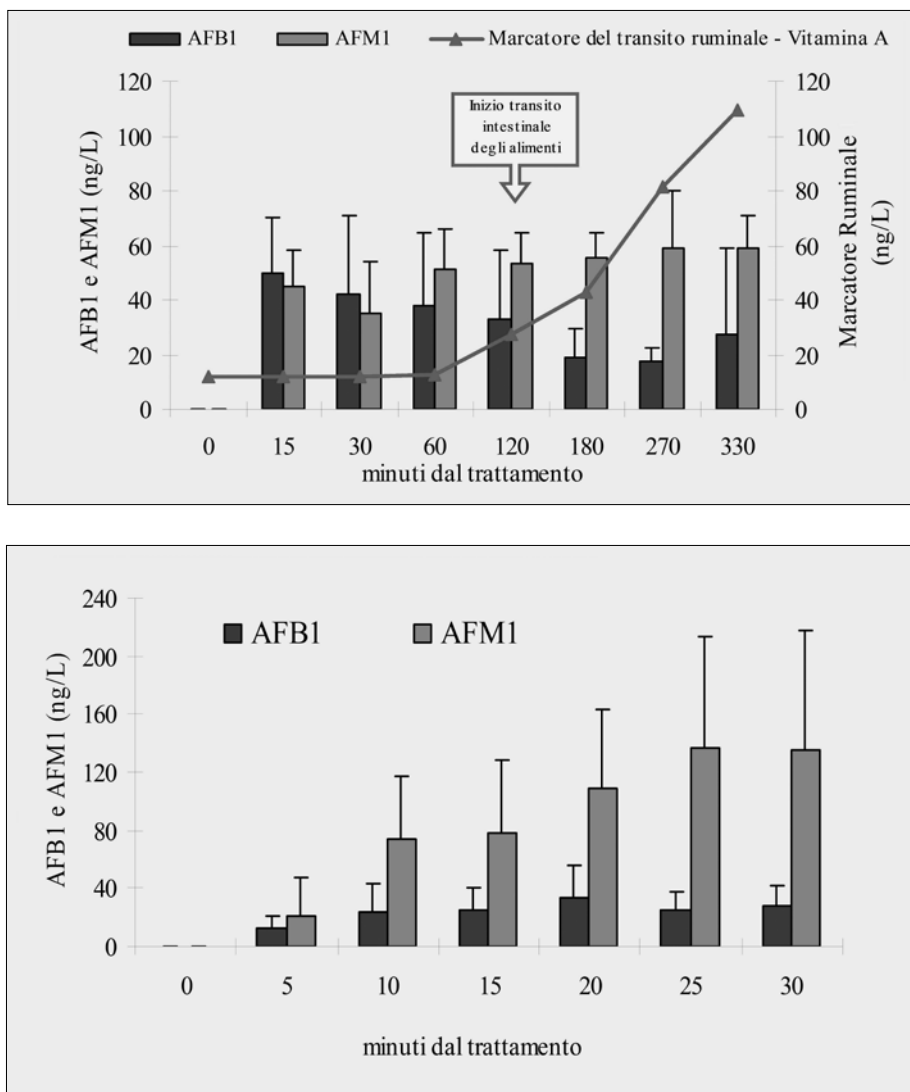


Fig. 1 *Comparsa ematica dell'AFB1 e dell'AFM1 dopo somministrazione di un singolo bolo contaminato*

rumine e dell'intestino (Gallo et al., 2008). Inoltre, il processo di idrossilazione della molecola madre ad AFM1 avviene a opera del sistema ossidativo citocromo P450 presente in diversi tessuti e organi dell'organismo, oltre che nel fegato (Eaton et al., 1994). Questa la ragione alla base della rapida comparsa ematica dell'AFM1.

2.1.1 Carry-over delle aflatossine nelle vacche da latte

L'escrezione delle aflatossine madri e dei loro metaboliti avviene principalmente via bile e con le urine (Eaton et al., 1994). Studi ormai datati (Wogan and Hiesh, 1980; Coulombe e Sharma, 1985; Holeski et al., 1987) hanno dimostrato come circa il 45-60% delle aflatossine ingerite vengano eliminate attraverso le feci, mentre il 15-20% con le urine. Negli animali in lattazione una piccola quantità di AFB1 viene escreta nel latte sotto forma del metabolita idrossilato AFM1. Molti studi sono stati condotti negli anni per determinare l'entità e i meccanismi che stanno alla base di tale processo di escrezione. In generale, gli studi condotti fra gli anni '60 e '70 hanno impiegato alte dosi di micotossina, animali poco produttivi e tecniche analitiche meno accurate delle attuali (Van de Linde et al., 1964; Polan et al., 1974). Fra il 1980 e il 2010, invece, le prove sono state condotte con bassi dosaggi di micotossine, animali più produttivi e tecniche analitiche migliori, in grado di quantificare concentrazioni di pochi ng/kg nel latte (Veldman et al., 1992; Battaccone et al., 2003; Masoero et al., 2007).

Da questi studi è stato possibile chiarire sia le dinamiche che il tasso di escrezione dell'AFB1 nel latte come AFM1. In particolare, quando l'animale inizia ad assumere alimenti contaminati, si osserva un aumento dell'AFM1 già dalla prima munta, che si stabilizza dopo vari giorni (da 1 a 5-6 giorni) fino al raggiungimento di una condizione stazionaria (Veldman et al., 1992; Masoero et al., 2007). Quando l'alimento contaminato viene rimosso dalla dieta, si osserva una rapida diminuzione dell'AFM1 nel latte fino al raggiungimento delle condizioni iniziali. Una tipica dinamica di escrezione dell'AFM1 nel latte è rappresentata in figura 2 (Masoero et al., 2007).

Il tasso di escrezione dell'AFB1 nel latte, denominato "carry-over", può variare dallo 0.1% a più del 6% (valori medi di gruppo pari a 1-3%) e dipende da diversi fattori quali specie (Battaccone et al., 2003), variabilità dell'individuo (Munksgaard et al., 1987; Pettersson et al., 1989; Veldman et al., 1992), attività ruminale (Westlake et al., 1989), attività epatica (Auerbach et al., 1998), induzioni del sistema ossidativo CYP450 (Steiner et al., 1990), permeabilità di membrana (Lafont et al., 1983; Velman et al., 1992) e livello produttivo degli animali (Battaccone et al., 2003; Masoero et al., 2007) (tab. 2).

Recentemente, Van Eijkeren et al. (2006) hanno sviluppato un modello meccanicistico statico per la determinazione del carry-over dell'AFB1, suggerendo che il limite di 5 µg/kg di AFB1 nei mangimi sia appropriato per avere

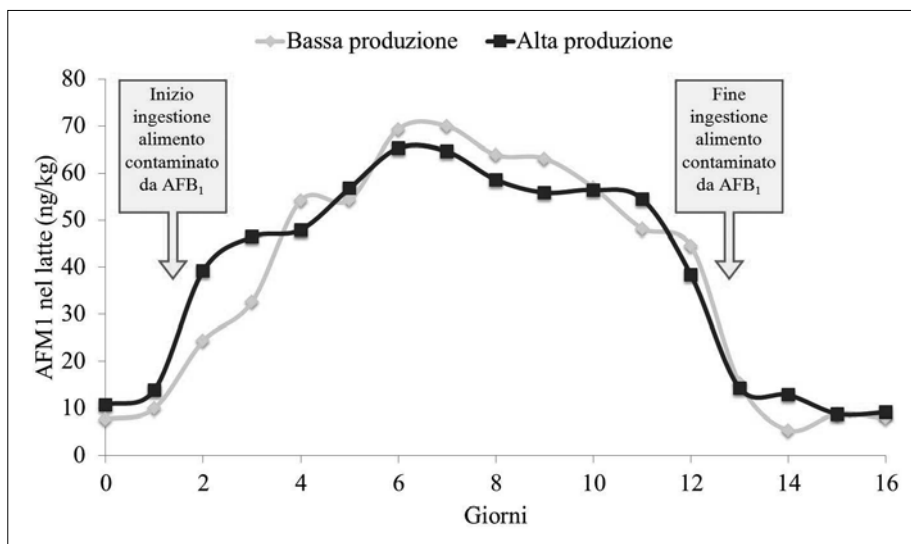


Fig. 2 *Dinamica dell'escrezione di AFB1 nel latte come AFM1 in animali a bassa (< 30 kg/capo/giorno) o alta (> 30 kg/capo/giorno) produzione di latte*

contaminazioni nel latte minori di 50 ng/kg di AFM1. Nella nostra realtà zootecnica, sembra che il limite imposto dalla comunità europea sui mangimi completi/complementari e sulle materie prime (20 µg/kg di AFB1) non sia in grado di salvaguardare gli allevatori dal rischio di contaminazione elevata del latte. A tal proposito, diverse equazioni sono state proposte per avere una prima valutazione del rischio in allevamento e queste mettono in relazione il livello produttivo degli animali e il carry-over dell'AFM1. Fra queste, riportiamo:

Carry-over (%) = $0.013 \times \text{Latte prodotto (kg/capo/giorno)} - 0.026$
(Veldman et al., 1992);

Carry-over (%) = $0.0769 \times \text{Latte prodotto (kg/vacca/d)} - 0.3255$
(Masoero et al., 2007).

A parità di ingestione di AFB1, gli animali con un livello produttivo più alto, pur avendo un carry-over dell'AFB1 maggiore, mostrano una concentrazione di AFM1 nel latte simile a quella riscontrata in animali a bassa produzione (Masoero et al., 2007) (tab. 2). Dato che il limite proposto dalla Comunità Europea (EC, 2003) riguarda la concentrazione e non l'escrezione totale di AFM1 nel latte, più che il carry-over risulterà importante conoscere la quota giornaliera totale di AFB1 ingerita dagli animali. Infatti, esiste una

	INGESTIONE DI AFB1 ($\mu\text{g/d}$)	PRODUZIONE DI LATTE	CONCENTRAZIONE DI AFM1 NEL LATTE ($\mu\text{g/kg}$)	ESCREZIONE DI AFM1 NEL LATTE($\mu\text{g/d}$)	CARRY- OVER (%)
Inizio lattazione	39	39.5	0.06	2.40	6.2
Fine lattazione	34	16.6	0.04	0.60	1.8
Alta produzione	7	39.4	0.01	0.3	3.6
Bassa produzione	14	17.4	0.02	0.4	2.6
Alta produzione	33	39.3	0.03	1.2	3.8
Bassa produzione	36	16.8	0.05	0.9	2.5
Alta produzione	57	37.0	0.06	2.3	4.0
Bassa produzione	56	14.8	0.10	1.4	2.5

Tab. 2 *Carry-over di aflatossina B1 ($\mu\text{g/kg}$) in vacche a diverso stadio di lattazione e diversa produzione*

relazione lineare fra quantità di AFB1 ingerita con la dieta ($\mu\text{g/capo/giorno}$) e la concentrazione di AFM1 nel latte (ng/kg).

L'equazione più usata per stimare la concentrazione di AFM1 nel latte è quella proposta da Veldman et al. (1992):

$$\text{AFM1 (ng/kg)} = 1,19 \times \text{AFB1 ingerita } (\mu\text{g/capo/giorno}) + 1,9.$$

Sempre Veldman et al. (1992) suggeriva che altri fattori in grado di modificare la permeabilità di membrana della ghiandola mammaria potessero innalzare il tasso di escrezione dell'AFM1 nel latte. Le esperienze fatte da Masoero et al. (2007) sembrano contraddire tale assunto, in quanto animali con diverso numero di cellule somatiche (minori o molto superiori a 350'000 cellule/ml) e quindi con una presumibile diversa permeabilità di membrana hanno avuto una concentrazione di AFM1 nel latte simile, a parità di ingestione di AFB1 con gli alimenti. È quindi fondamentale la corretta valutazione della contaminazione da AFB1 degli alimenti per poter effettuare stime attendibili della concentrazione di AFM1 nel latte. A questo proposito, è di grande interesse l'osservazione derivante da un recente lavoro (Gallo et al., 2010) che evidenzia come la presenza di sostanze in grado di ridurre la contaminazione o l'assorbimento della micotossina, denominati comunemente sequestranti, in mangimi o miscele di alimenti interferisca in maniera determinante sulla determinazione analitica dell'AFB1. Per questo, nella fase analitica di estrazione della micotossina deve essere utilizzata una miscela estraente a base di acetone:acqua in sostituzione della tradizionale miscela di metanolo:acqua. La ricaduta sull'allevatore di questo potenziale errore analitico si traduce in un'errata valutazione del rischio di contaminazione del latte.

2.1.2 Carry-over delle aflatossine al latte di altre specie

Anche per il latte prodotto da animali da latte appartenenti a specie diverse da quella bovina si fa riferimento al limite massimo di AFM1 sopra riportato per il latte vaccino (50 ng/kg).

Nel latte caprino si ritrova, analogamente a quello bovino, la presenza di aflatossina AFM1 derivante dall'assunzione di alimenti contaminati da AFB1 con una concentrazione massima già a 3-6 ore dalla somministrazione (Mazette et al., 2009). Il carry-over nelle pecore sembra piuttosto basso ($0.112 \pm 0.011\%$) rispetto alle vacche e capre (Battaccone et al., 2003). Nel latte ovino la presenza di M1 può essere stimata a partire da una equazione simile a quella di Veldman et al. (1992) riportata sopra per le bovine:

$$\text{AFM1 (ng/kg)} = 1.36 \times \text{AFB1 ingerita (\mu g/capo/giorno)} + 4.3$$

Da questa equazione emerge che per non superare il limite di legge (50 ng/kg), la quantità di AFB1 somministrata giornalmente alle pecore non può superare i 34 $\mu\text{g/d}$. La concentrazione di AFB1 nel mangime quindi dovrà essere inferiore a 34, 45, 67, 134 $\mu\text{g/kg}$ per quantità somministrate pari rispettivamente a 1 kg/d, 750 g/d, 500 g/d e 250 g/d.

In una prova effettuata somministrando alimenti naturalmente contaminati a bufale in lattazione, si è potuto osservare che nel latte di bufala oltre alla aflatossina M1 sono presenti anche le aflatossine M2, B1 e B2. Le percentuali di escrezione nel latte rispetto alle quantità ingerite sono risultate molto basse per la AFM1 (0.2%), AFB1 (0.05%) e AFB2 (0.2%) mentre notevolmente più elevata è stata quella della AFM2 (2%). L'escrezione di AFB1 nel latte di bufala potrebbe essere legata alla più alta percentuale di grasso (7-8%) rispetto al latte vaccino, essendo la AFB1 meno polare della AFM1 oppure a una più bassa efficienza metabolica (Pietri et al., 2003).

2.1.3 Passaggio delle aflatossine dal latte al formaggio

Una trattazione specifica merita anche la presenza di micotossine nei prodotti lattiero-caseari, considerando la notevole importanza che rivestono nel nostro Paese sia dal punto di vista quantitativo (circa il 77% del latte è trasformato) che qualitativo (46 formaggi DOP). Il Regolamento (CE) n. 165/2010 riporta che anche per il latte trattato termicamente e destinato alla fabbricazione di prodotti a base di latte vale il limite riferito al latte crudo (0.050 $\mu\text{g/kg}$). Per i

prodotti ottenuti da processi che non comportano separazione di costituenti del latte (trattamenti termici, conservazione a basse temperature, produzione di yogurt) non ci sono variazioni significative dei livelli di AFM1 (se si escludono dei possibili effetti negativi su *Lactobacillus bulgaricus* e su *Streptococcus thermophilus* nello yogurt). Nei formaggi si verifica invece un effetto di concentrazione della AFM1 nel corso della processo di maturazione e stagionatura. In questo caso va ricordato quanto riportato nel Regolamento 1881/2006 (articolo 2) dove si precisa che bisogna tener conto delle modifiche di concentrazione del contaminante e che gli stessi operatori del settore alimentare devono fornire i fattori specifici di concentrazione e diluizione. Sulla base di queste disposizioni la regione Veneto, già a seguito dell'emergenza del 2003, ha suggerito di adottare, per calcolare i limiti di aflatossina M1 nei formaggi i coefficienti di trasformazione del latte in formaggio (riportati per i formaggi italiani nella G.U. n. 183 dell'8 agosto 2003). A titolo esemplificativo si riporta il calcolo del tenore massimo di AFM1 nell'Asiago Pressato, che presenta un coefficiente pari a 8.95, cioè una resa casearia pari all'11.2%:

AFM1 nel formaggio = $0.05 \mu\text{g/kg}$ (limite AFM1 nel latte) $\times 8.95 = 0.447 \mu\text{g/kg}$.

In Italia inoltre è stata pubblicata in data 24 agosto 2004 la nota D.G.V.A./IX/25664/f.5.b.b.2/P del Ministero della Salute che fissa un limite di $0.45 \mu\text{g/kg}$, quale valore provvisorio e riferito solo ai formaggi a pasta dura e lunga stagionatura (es. Parmigiano Reggiano DOP e Grana Padano DOP). Alcuni paesi europei hanno fissato invece dei limiti nei formaggi senza distinzione fra le diverse tipologie (ad esempio la Svizzera: $0.250 \mu\text{g/kg}$). Riguardo alla mozzarella di bufala, infine, va ricordato come la presenza di AFB1 nelle mozzarelle, accanto alla AFM1, AFM2 e AFB2 (Pietri et al., 2003), può indurre qualche preoccupazione nel caso di somministrazione di alimenti contaminati agli animali e per questo dovrebbe essere considerata la possibilità di una legislazione specifica (Fedele et al., 2007).

2.1.4 Carry-over delle aflatossine negli animali da carne e nelle ovaiole

Mentre gli studi effettuati sulla presenza di micotossine nel latte sono numerosi, per quanto riguarda la carne e altri tessuti edibili, le sperimentazioni sono generalmente più limitate sia nei bovini che in altre specie da reddito.

SPECIE ANIMALE	TESSUTO	AFLATOSSINA	TASSO DI TRASFERIMENTO %	RAPPORTO AF ALIMENTO/AF TESSUTO
Vacche da latte	Latte	M1	1.3 – 2.5	75-40
Suini	Fegato	B1	0.125	800
Pollo da carne	Fegato	B1	0.083	1200
Ovaiole	Uova	B1	0.05	2000
Bovini da carne	Fegato	B1	0.007	14000

Tab. 3 *Relazione tra livello di AFB1 nella dieta e quantità di aflatossine nei tessuti edibili*

Molto scarse sono le evidenze scientifiche che riportano, ad esempio, risultati di contaminazione riferiti al suino pesante, una tipica produzione italiana, oppure ai sistemi di allevamento intensivo del vitellone caratteristici dell'Italia settentrionale, nei quali le razioni si basano su un largo impiego di insilato di mais e, anche se in misura minore, di pastoni. In alcuni casi inoltre le prove sono state effettuate negli anni '70/'80, quando le strumentazioni scientifiche per la rilevazione della contaminazione da AF presentavano un livello di sensibilità non molto elevato. Tuttavia alcune esperienze possono darci interessanti indicazioni sul carry-over delle AF dall'alimento alla carne bovina, suina e alle uova, come evidenziato nel lavoro di Brera e Guarino, riportato in questo volume, a cui si rimanda.

Per fornire una valutazione comparativa fra varie specie e categorie animali, si riportano in tabella 3, alcuni dati riassuntivi di prove riportate nella letteratura scientifica sul trasferimento della AFB1 dall'alimento (feed) ai diversi tessuti in animali di diversa specie e categoria. Il carry-over riportato per le aflatossine nel fegato (sito preferenziale di accumulo rispetto ad altre parti edibili) di bovini da carne è pari a 0.007% e risulta molto inferiore rispetto a quello relativo al fegato di altre specie come il pollo (0.083%) e il suino (0.125%). Riguardo al trasferimento di AFB1 dall'alimento all'uovo, i risultati di prove condotte da vari autori sono piuttosto variabili ma il carry-over non supera lo 0.05% e in alcuni casi è pari a 0.

3. METODI DI DECONTAMINAZIONE E DI DETOSSIFICAZIONE DA AFLATOSSINE

Va ricordato che sia i metodi di decontaminazione, che si basano sull'allontanamento delle particelle contaminate da aflatossine, che quelli di detossificazione, che invece prevedono la distruzione o inattivazione delle micotossine, devono soddisfare alcuni importanti requisiti (schema 2), come riportato nelle linee guida CAST (2003). Si può intervenire con trattamenti fisici, chimici e biologici.

Essere efficaci nel rimuovere/distruggere/inattivare le aflatossine
Distruggere le spore fungine per impedire una ri-contaminazione successiva
Non apportare, generare e lasciare residui, metaboliti o sottoprodotti tossici o cancerogeni/mutageni
Mantenere il valore nutritivo e l'appetibilità del prodotto
Non alterare significativamente le caratteristiche tecnologiche
Essere convenienti dal punto di vista economico e tecnologico e non influenzare il costo
Essere semplici e non richiedere tempi lunghi di applicazione
Essere a basso impatto ambientale

Schema 2 *Caratteristiche dei metodi di decontaminazione e detossificazione degli alimenti (CAST 2003)*

3.1. *Trattamenti fisici*

3.1.1 Separazione meccanica e segregazione per densità

La separazione fisica di frazioni molto contaminate (polveri, cariossidi spezzate, ecc.) da una partita, riduce il livello di AF. Il processo non porta a una decontaminazione completa, ma può fornire risultati assai significativi (Phillips et al., 1994).

La segregazione per densità di granaglie contaminate comporta la separazione per flottazione delle cariossidi contaminate da quelle sane. Questa procedura è compatibile con le tecniche di macinazione a umido del mais e con i trattamenti alcalini (es. nixtamalizzazione per la produzione di masa). Va tuttavia rilevato che l'aspetto e il peso delle cariossidi non sempre indica la presenza o assenza di AF (Piva et al., 1995).

3.1.2 Inattivazione termica

Le AF sono resistenti al calore, pertanto esse non sono completamente distrutte da trattamenti termici come bollitura in acqua, autoclavaggio ed estrusione. Una parziale distruzione di AF può essere ottenuta (es. nel mais) mediante tostatura. Tuttavia, la riduzione del livello di AF non è completa e uniforme ed è influenzata da temperatura, tempo di trattamento e livello di umidità. Recentemente è stata rilevata una riduzione del 20% della concentrazione di AF in mangimi trattati a 100°C per 30 minuti (Oluwafemi, 2004).

3.1.3 Irradiazione

L'esposizione di olio di arachide contaminato a luce UV ha ridotto il livello di AF, ma sembra che i prodotti di degradazione siano mutageni. Il tratta-

mento con luce UV per 20 minuti di latte contaminato ha ridotto la concentrazione di AFB1 dell'89,1% e del 60,7% in presenza o in assenza dello 0,05% di perossido, rispettivamente. Anche in questo caso è stata manifestata la preoccupazione che il trattamento causi una perossidazione e la formazione di composti più tossici (Yousef e Marth, 1989).

Anche la luce solare, con un'esposizione di 14 ore, ha distrutto tra il 77 e il 90% della AFB1 aggiunta a fiocchi di arachidi, ma la riduzione è stata solo del 50% nel prodotto naturalmente contaminato.

I raggi gamma non sono stati in grado di degradare l'AF in farina di arachide contaminata.

L'irraggiamento con microonde è stato sperimentato per detossificare le AF; il trattamento sembra abbastanza efficace sia in sistemi modello che in alimenti reali. La percentuale di distruzione è risultata positivamente correlata con la potenza applicata e il tempo di esposizione (Farag et al., 1996).

3.2 *Trattamenti chimici*

Molti agenti chimici sono stati valutati per la loro capacità di detossificazione dell'AFB1. Fra questi, vi sono:

- a) agenti cloranti: sodio ipoclorito, biossido di cloro, cloro gassoso;
- b) agenti ossidanti: perossido di idrogeno, ozono, sodio bisolfito;
- c) agenti idrolitici: acidi e alcali;
- d) solventi;

tutti questi hanno evidenziato una maggiore o minore efficacia. Molti agenti chimici intervengono direttamente sulla molecola (fig. 3) modificandone la struttura chimica (Piva et al., 1995; CAST, 2003).

3.2.1 Cloro

Il cloro in soluzione acquosa è utilizzato nell'industria alimentare per sanitzare gli impianti e per lavare diversi tipi di prodotti, quali frutti, frutta secca, pesce e carne. Il cloro gassoso è utilizzato come agente sbiancante e ossidante nell'industria delle farine, senza particolari rischi.

L'ipoclorito di sodio si è dimostrato efficace nel degradare le AF negli alimenti (Phillips et al., 1994). La clorazione con sodio ipoclorito a concentrazione dello 0,2, dell'1, del 5 o dell'11%, con acido perclorico al 3%, con cloro gassoso al 10% o a concentrazione di 15 mg per 100 mg di AFB1 pura, ha

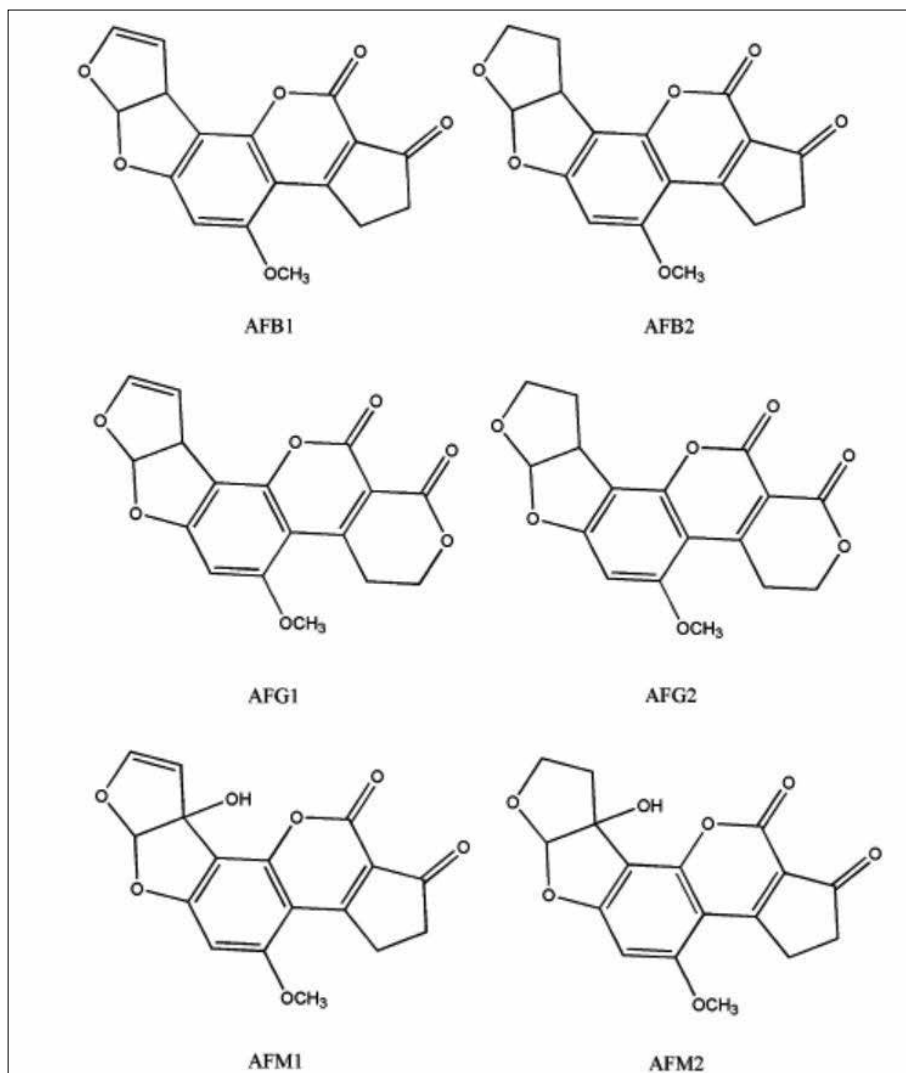


Fig. 3 *Struttura chimica delle aflatossine*

evidenziato la capacità di degradare quasi completamente l'AFB1 in purezza o in alimenti cui era stata aggiunta; l'eccezione a questi risultati è stata la farina di estrazione di arachide, per la quale è stata ottenuta una inattivazione solamente del 50%.

L'anione ipoclorito è un forte agente clorante o ossidante, a seconda delle condizioni di trattamento. In condizioni acide, la clorazione prevale sull'ossi-

dazione, ma alla fine si forma 8,9-diidrossi-AFB1. La non tossicità osservata su embrioni di pollo e su animali da esperimento e la non mutagenicità, rilevata dopo clorazione di alimenti tossici, confermano l'efficacia di questo tipo di trattamento.

Tuttavia, qualche preoccupazione riguardo alla sicurezza degli alimenti trattati persiste: la presenza di residui di cloro, la produzione di grassi e proteine modificati di tossicità non nota e la riduzione del contenuto in triptofano per effetto del trattamento, devono essere attentamente valutati. Le preoccupazioni sono minori se i prodotti trattati sono destinati a uso zootecnico. La capacità di penetrazione del cloro gassoso internamente alla massa del prodotto per degradare l'AFB1, deve essere pure attentamente considerata.

3.2.2 Perossido di idrogeno

Per l'efficienza e il basso costo è tra le sostanze più considerate per degradare le AF. I residui di perossido di idrogeno (acqua ossigenata se in soluzione) negli alimenti trattati degradano rapidamente lasciando residui non tossici (CAST, 2003).

Sono stati individuati diversi trattamenti con perossido di idrogeno in grado di degradare quasi totalmente l'AFB1, quali allo 0,5% a pH 4 su isolati proteici di arachide, al 3% su mais e al 6% a pH 9,5 per 30 minuti su farina di arachide. Questi trattamenti provocano solamente lievi effetti sulla qualità degli alimenti. L'AFB1 viene degradata ad acido succinico, passando attraverso il diidrossiderivato, quando viene trattata con una miscela di perossido di idrogeno e sodio idrossido.

3.2.3 Ozono

È un potente agente ossidante, utilizzato per la sanitizzazione delle acque e dei magazzini di stoccaggio dei prodotti alimentari (Phillips et al., 1994). Per quanto riguarda le AF, reagisce con il doppio legame in posizione 8,9 sull'anello furanico. In alcuni minuti a temperatura ambiente l'ozono degrada l'AFB1 e l'AFG1 sciolte in 4% dimetilsolfossido. Sperimentazioni condotte hanno confermato la non mutagenicità e non tossicità dei prodotti trattati (CAST, 2003). L'ozono ha ridotto del 91% il livello di AFB1 nella farina di cotone al 22% di umidità dopo trattamento a 100 gradi per 2 ore. Tuttavia, la riduzione ottenuta su farina di arachide al 30% di umidità è stata solamente

del 78%, dopo esposizione a ozono per 1 ora. La necessità di un trattamento lungo e la diminuzione del “protein efficiency ratio” e della lisina disponibile causata dal trattamento, lo rendono un metodo non del tutto soddisfacente.

3.2.4 Bisolfito di sodio

Il bisolfito di sodio, un additivo utilizzato nell'industria, viene facilmente accettato come agente detossificante (Phillips et al., 1994; CAST, 2003). A basse concentrazioni (0,5 e 1%) è più efficace dell'ammoniaca o del sodio idrossido, nell'inattivare l'AFB1 nel mais. Il bisolfito può reagire sui due siti attivi dell'AFB1, o causando la rottura dell'anello del lattone o addizionandosi all'anello furanico terminale, o entrambi. Nonostante il mais trattato con bisolfito di sodio non evidenzia consistenti variazioni di colore o di altre caratteristiche tecnologiche, la scarsa efficienza nel degradare l'AFB2 e l'AFG2 e la scarsità di informazioni sulla possibile rigenerazione dell'AFB1 o di un derivato tossico (soprattutto l'eossido) durante la metabolizzazione dell'AFB1 negli alimenti trattati, limitano i progressi a livello industriale di questo trattamento.

3.2.5 Ammoniaca

Il trattamento con ammoniaca degli alimenti a uso zootecnico è stato molto utilizzato in un ampio spettro di condizioni sia di laboratorio che di campo (Phillips et al., 1994; Piva et al., 1995). L'ammoniaca si è dimostrata ugualmente efficace nel decontaminare gli alimenti sia in fase acquosa che gassosa; il trattamento provoca una degradazione delle AF superiore al 95%. Numerose prove sottolineano la necessità di usare fino al 5% di ammoniaca, 10-20% di umidità e una combinazione di tempo-temperatura adeguati per una effettiva degradazione dell'AF. A temperature di 80-120°C o a elevate pressioni, il tempo di esposizione richiesto è di 15-30 minuti. Una degradazione delle AF quasi completa è stata ottenuta anche a temperatura ambiente, con durata del trattamento di 2-3 settimane.

Il trattamento con ammoniaca durante la pellettatura si è dimostrato meno efficace.

La degradazione dell'AFB1 con ammoniaca procede attraverso l'idrolisi dell'anello del lattone ed è seguita dalla decarbossilazione, così da produrre due principali composti non tossici, l'AFD1 e un derivato benzofuranico.

La degradazione chimica dell'AFB1 durante i trattamenti con ammoniacca, è stata valutata dal punto di vista tossicologico in prove di alimentazione su animali da esperimento e di interesse zootecnico: anatroccoli, giovani tacchini, ratti, topi, suini e trote alimentati con le farine decontaminate non hanno evidenziato alcun effetto negativo. Le vacche alimentate con farine decontaminate hanno prodotto latte con livelli proporzionalmente più bassi di AFM1; i vitelloni hanno addirittura evidenziato maggiori incrementi ponderali, probabilmente per il maggior apporto di azoto. Va tuttavia rilevato che, in seguito al trattamento con ammoniacca, pur avendosi una maggior digeribilità degli aminoacidi, si osserva una riduzione del 10% della qualità delle proteine delle farine trattate, con significative perdite di lisina e metionina e una riduzione irreversibile del grado di insaturazione dei lipidi. Il mais trattato ha una colorazione più scura dovuta alla caramellizzazione degli zuccheri.

Il trattamento con ammoniacca degli alimenti per animali è autorizzato dalla Food and Drug Administration. Va tenuto però presente che l'ammoniacca è corrosiva per le superfici metalliche; devono anche essere adottate specifiche norme di sicurezza per il suo impiego.

3.2.6 Alkali

Il trattamento alcalino idrolizza l'anello del lattone dell'AFB1. La degradazione dell'AF negli alimenti contaminati mediante trattamento con alcali, è stata ottenuta in farine di arachide, di cotone, mais.

Il meccanismo di degradazione dell'AF è analogo a quello dell'ammoniacca.

La cottura della farina di arachide (al 30% di umidità) con una soluzione di NaOH a 100°C per 90 minuti, ha ridotto la concentrazione di AF da 111 a 17 µg/kg. L'efficienza relativa di differenti agenti alcalini nel degradare l'AFB1 in soluzione a 110°C sembra essere la seguente: potassio idrossido > sodio idrossido > potassio carbonato > sodio carbonato > potassio bicarbonato > ammonio idrossido > sodio bicarbonato > ammonio carbonato.

Una maggiore azione di degradazione è stata osservata con trattamenti con miscele di calcio idrossido e formaldeide o monometilamina, con decontaminazioni del 94-97%.

Limitate sono le informazioni disponibili concernenti gli effetti dei trattamenti alcalini sul valore nutritivo e sulla tossicità residua delle farine.

3.2.7 Acidi

I trattamenti con acidi provocano l'idratazione dell'AFB1 nella posizione corrispondente al doppio legame 8,9- dell'anello furanico terminale, così da formare AFB2a, che ha una tossicità 200 volte inferiore all'AFB1.

Poiché il trattamento con acidi forti può influenzare la qualità del prodotto e la tossicità residua non è del tutto trascurabile, questo processo non è molto consigliabile.

3.2.8 Estrazione con solventi

Le AF possono essere efficacemente estratte da granaglie contaminate con specifiche miscele di solventi. Questa tecnica influenza in modo assai limitato il valore nutritivo del prodotto. I solventi testati sono stati etanolo, acetone acquoso, isopropanolo, esano in miscela con etanolo o metanolo o acetone e acqua, o etanolo e acqua; molti di questi trattamenti si sono dimostrati efficaci, ma i costi appaiono troppo elevati per applicazioni su scala industriale (Piva et al., 1995).

3.2.9 Altri agenti chimici

Una varietà di altri agenti chimici sono stati presi in considerazione per valutare la loro capacità di degradare le AF. Di questi, soluzioni contenenti il 5% di dimetilamina cloridrato, aldeidi, perossido di benzoile, tetrossido di osmio, iodio, solfato ferroso ammonico, permanganato di potassio, chinoni, borato di sodio o formaldeide, hanno dimostrato una più o meno accentuata capacità di degradare le AF. Tuttavia, la loro applicabilità agli alimenti viene limitata da problemi di sicurezza che possono sorgere da residui di sostanze chimiche.

3.3 *Metodi biologici*

Alcuni microorganismi (lieviti, funghi e batteri) sono stati valutati per la loro eventuale capacità di degradare le AF in post-raccolta (CAST, 2003). Il *Flavobacterium aurantiacum* è risultato in grado di rimuovere l'AF da un mezzo liquido senza produrre residui tossici. È stato osservato che certi funghi pro-

duttori di sostanze acide possono catalizzare la trasformazione dell'AFB1 in AFB2a, con forte riduzione della tossicità.

4. USO DI AGENTI IN GRADO DI RIDURRE LA CONTAMINAZIONE O L'ASSORBIMENTO DELLE AFLATOSSINE

La pratica più diffusa in allevamento per contenere gli effetti negativi dovuti all'ingestione di micotossine e ridurre l'escrezione dei metaboliti nel latte (AFM1) è quella di aggiungere alle diete o nei mangimi gli agenti sequestranti, detti anche adsorbenti (Phillips et al., 1990; Diaz e Smith, 2005). Queste sostanze attuano una "riduzione della contaminazione delle micotossine negli alimenti" e sono in grado di "eliminare o ridurre l'assorbimento, favorire l'escrezione e modificare i meccanismi di azione delle micotossine", come sancito nel regolamento CE 386/2009 che ha definito questa nuova classe di additivi alimentari.

Gli agenti sequestranti appartengono a diverse categorie quali allumino-silicati, carboni attivati, pareti di lievito, fibre micronizzate, batteri e altri polimeri (CAST, 2003; EFSA, 2009), anche se quelli più diffusi nella realtà aziendale italiana sono le argille e le pareti di lievito. Affinché un agente sequestrante possa essere definito "efficace", è necessario che esso abbia un'alta affinità per la molecola, che il legame fra agente sequestrante e micotossina sia stabile e che esso avvenga il prima possibile nel tratto gastro-intestinale degli animali, dato il rapido assorbimento della molecola.

Per valutare l'efficacia di un agente sequestrante si possono utilizzare metodiche rapide (metodiche *in vitro*) o prove su animali. Le prime sono facilmente riproducibili in laboratorio, poco costose, rapide e non necessitano dell'impiego di animali. A ogni modo, si tratta prevalentemente di metodiche utili allo screening comparativo tra agenti sequestranti (Galvano et al., 1996; Moschini et al., 2008). A tal proposito, Gallo et al. (2010) hanno messo a punto due metodiche *in vitro* in grado di simulare le condizioni dei diversi comparti del tratto gastro-intestinale sia dei monogastrici che dei ruminanti, testando l'efficacia di sequestro di 8 diverse tipologie di agenti sequestranti (sodio, calcio e magnesio bentoniti, montorillonite, caolinite, clinoptinolite, carbone attivato e pareti di lievito). Per convenzione, un buon agente sequestrante deve essere in grado di sequestrare più dell'80% dell'aflatossina con cui viene a contatto, al di sotto di tale valore l'agente sequestrante non è ritenuto un buon adsorbente. Oltre la capacità di sequestro, anche la forza e la continuità di tale sequestro dovrebbe essere valuta in fase di screening: se

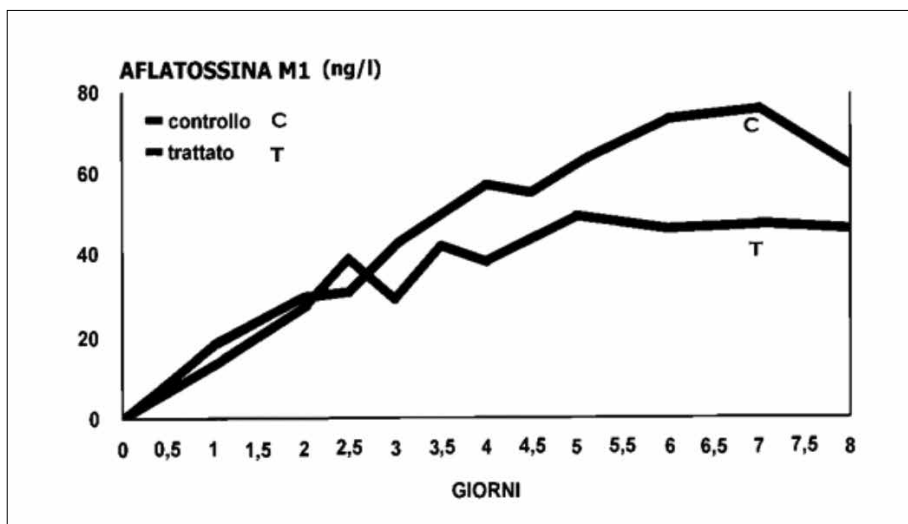


Fig. 4 Effetto dell'aggiunta di allumino-silicato alla dieta sul tenore di aflatoxina M1 nel latte

l'adsorbente rilascia più del 20% della micotossina precedentemente legata quando messo a contatto con una miscela estraente, dovrebbe essere ritenuto non idoneo e scartato (Diaz, 2004; Moschini et al., 2009). Le prove *in vivo*, che prevedono l'impiego di vacche in lattazione, sono più onerose e occorrono periodi più lunghi per poter avere una risposta sulla efficacia di sequestro. Rappresentano, però, l'unico modo per avere informazioni sicure sulla reale efficienza degli adsorbenti che si avvicinano alla realtà di stalla (Masoero et al., 2009; Pietri et al., 2011).

L'uso di queste sostanze rappresenta un modo poco costoso e generalmente efficace per ridurre la concentrazione di AFM1 nel latte e quindi nella realtà di stalla dovrebbero essere considerati come un aiuto e non come la soluzione (fig. 4). Un altro risvolto pratico relativo all'impiego degli adsorbenti nelle diete per vacche da latte è stato studiato in una specifica sperimentazione (Masoero et al., 2009) che evidenzia come il contatto fra tossina e adsorbente, in ambiente umidificato, migliora le performance di sequestro. Per questo, l'agente sequestrante dovrebbe essere aggiunto direttamente all'alimento più contaminato della dieta e non diluito nel carro miscelatore durante la preparazione della miscelata (*unifed*). Se tale contatto avviene in presenza di acqua, come ad esempio in fase di pellettatura, il contatto e la captazione della tossina migliora. Infine, dato il particolare meccanismo di azione di questi adsorbenti, che si basa principalmente su un sequestro fisico/chimico

delle micotossine, si può immaginare che alcuni nutrienti (alcune vitamine, minerali) possano essere sequestrati da questi prodotti somministrati con l'alimentazione. Alcune segnalazioni da parte di latterie fanno riferimento a effetti negativi sul processo di acidificazione spontaneo del latte. Su questo aspetto non vi sono dati certi *in vivo*, anche se prove condotte da ricercatori del CRA di Lodi sembrano supportare l'idea che ci sia solo una minima interferenza fra uso di adsorbenti, caratteristiche del latte e metabolismo minerale nell'animale (Migliorati et al., 2007; Abeni, 2013). In ogni caso, questi effetti sembrano essere molto contenuti, suggerendo che gli adsorbenti possano essere somministrati agli animali senza problemi, purché tale somministrazione avvenga a dosaggi adeguati e per periodi di tempo non eccessivamente lunghi.

Nuove ricerche hanno dimostrato come sia possibile vaccinare gli animali nei confronti delle aflatossine. In uno studio recente (Polonelli et al., 2011), è stato possibile verificare come vacche in lattazione immunizzate contro l'aflatossina riducevano l'escrezione di AFM1 nel latte del 47%. Inoltre, in una recente sperimentazione degli stessi gruppi di ricerca, il vaccino migliorato ha mantenuto il suo effetto anche dopo il parto in manze gravide vaccinate con performance migliori rispetto alla prova su vacche in lattazione, confermando ancora una volta come questo approccio potrebbe rappresentare un via alternativa o, meglio, integrativa all'uso degli agenti sequestranti nella realtà aziendale.

CONCLUSIONI

In conclusione si può affermare che le attuali conoscenze circa gli effetti dei vari livelli di aflatossina sullo stato di salute degli animali e sull'accumulo della molecola primaria e di vari metaboliti più o meno tossici sono limitate e dovrebbero essere ulteriormente approfondite per quanto riguarda soprattutto l'uso di alimenti naturalmente contaminati. Dovrebbero inoltre essere effettuate sperimentazioni sui metodi di detossificazione e/o decontaminazione del mais e delle altre materie prime a uso zootecnico, in grado di ridurre la presenza di aflatossine entro i limiti stabiliti dalla legislazione, come suggerito recentemente dal Comitato nutrizione animale della FEFAC (2013). La contaminazione naturale di aflatossina B1 nel mais, verificatasi quest'anno, potrebbe essere efficacemente sfruttata per impostare nel breve periodo prove in condizioni reali in modo da fornire a tutti gli operatori della filiera (agricoltori, stoccatrici, mangimisti, allevatori) indicazioni utili per provvedere al trattamento delle partite di mais "non conforme".

RIASSUNTO

Il mais rappresenta una delle materie prime più a rischio nell'alimentazione animale perché può subire, in particolari situazioni ambientali, livelli di contaminazione da aflatossine anche elevati e pericolosi per la salute degli animali e la sicurezza alimentare. Le aflatossine possono trasferirsi ai prodotti di origine animale attraverso meccanismi diversi da specie a specie, non sempre prevedibili e influenzati da molti fattori. Materie prime e razioni devono quindi essere costantemente controllate, in particolare quando le diete contengono, oltre alla granella di mais, altri alimenti a base di mais (insilati, pastoni, glutine, ecc.) e altri prodotti a rischio (es. arachidi, cotone e derivati). I metodi di decontaminazione e di detossificazione possono contribuire a ridurre il livello di aflatossine nel mais, con efficacia diversa a seconda del trattamento utilizzato. Alcuni trattamenti sembrano fornire risultati incoraggianti ma vanno valutati su larga scala. Sostanze per ridurre la contaminazione o l'assorbimento dell'aflatossina possono risultare un valido supporto ma generalmente si caratterizzano per una ampia variabilità di risposta.

ABSTRACT

Aflatoxin are known to contaminate corn, cottonseed meal and other feeds. When these contaminated feeds are consumed by animals at high levels, adverse effects on health and performance of animals are observed. In addition humans could be exposed indirectly to aflatoxins by consumption of products of animal origin. The carry-over of aflatoxins from feed to food depends on many factors and not always is predictable. Therefore, feeds and rations must be regularly monitored, in particular when diets contain, in addition to the corn grain, other corn-based feeds (corn silage, corn ears silage, corn gluten meal) and/or other feed at risk of contamination (peanut, cotton). The methods of decontamination and detoxification can help to reduce the level of aflatoxins in corn, with different efficiency depending on the treatment used. Some treatments seem to provide encouraging results but should be evaluated on a large scale. Substances to reduce contamination or absorption of aflatoxin can be a valid support but generally are characterized by a wide variability of response.

BIBLIOGRAFIA

- ABENI F. (2013): Comunicazione personale.
- ASSALZOO (2012): Annuario 2012. Sito internet visitato il 14 marzo 2013: <http://www.assalzoo.it/default.asp?Sez=DOCU&SSez=ANNU>.
- AUERBACH H., MAAS R.F.M., OP DEN CAMP H.J.M., POL A., FINK-GREMMELS J. (1998): *Biodegradation of Aflatoxin B1 by bovine rumen micro-organism in vitro and its effects on rumen fermentation*, «Revue Med. Veter», 146, pp. 573.
- BAILONI L. (2006): *Micotossine nel mais utilizzato nell'alimentazione zootecnica: trasferimento ai prodotti di origine animale*, in *Mais e sicurezza alimentare*, a cura di Veneto Agricoltura, Legnaro (PD), pp. 73-84.

- BATTACONE G., NUDDA A., CANNAS A., CAPPIO BORLINO A., BOMBOI G., PULINA G. (2003): *Excretion of aflatoxin M1 in milk of dairy ewes treated with different doses of aflatoxin B1*, «J. Dairy Sci.», 86, pp. 2667-2675.
- BORREANI G., TABACCO E., CAVALLARIN L. (2003): *Contaminazione da micotossine negli insilati di mais*, «L'Informatore Agrario», 31, pp. 49-55.
- CAST (Council for Agricultural Science and Technology) (2003): *Mycotoxins: Risk in plant, animal and human system*, «Ames», Iowa, USA.
- CINTI F., TORRICELLA C., GRANDI S., VECCHIETTINI M., CANEVER A., BORSARI A. (2006): *Un triennio di indagini sulla presenza di aflatossine nei mangimi*, in *Atti del 2° Congresso nazionale "Le micotossine nella filiera agro-alimentare"*, a cura di M. Miraglia, C. Brera, Istituto Superiore di Sanità, Roma, 16-18 ottobre 2006 (Rapporti ISTISAN 07/37). pp. 152-156.
- COULOMBE R.A. JR. (1993): *Biological action of mycotoxins*, «J. Dairy Sci.», 76 pp. 880-891.
- COULOMBE R.A. JR., SHARMA R.P. (1985): *Clearance and excretion of intratracheally and orally administered aflatoxin B1 in rat*, «Food Chem. Toxicol.», 23, pp. 827-830.
- DE LIGUORO M. (2006): *Micotossine: aspetti tossicologici per gli animali e per l'uomo*, in *Mais e sicurezza alimentare*, a cura di Veneto Agricoltura, Legnaro (PD), pp. 85-95.
- DE PAOLI S. (2013): Comunicazione personale.
- DIAZ D.E., SMITH T.K. (2005): *Mycotoxin sequestering agents: practical tools for neutralisation of mycotoxins*, in *The Mycotoxin Blue Book*. D. E. Diaz, ed. Nottingham University Press, Nottingham, UK., pp. 323-339.
- EATON D. L., RAMSDELL H. S., NEAL G.E. (1994): *Biotransformation of aflatoxins*, in *The Toxicology of Aflatoxins: Human Health, Veterinary, and Agricultural Significance*. D. L. Eaton and J. D. Groopman (eds.). Academic Press Inc., San Diego, California, USA, pp. 45-72.
- EFSA (2009): *Review of mycotoxin-detoxifying agents used as feed additives: mode of action, efficacy and feed/food safety*, Reference number of the call for proposal: CFP/EFSA/FEEDAP/2009/01.
- FEFAC (2013): *Parere sull'aflatossina B1 nel mais nel sud-est Europa*, «Fefax», 9.
- FARAG R.S., RASHED M.M., ABO-HAGGER A.A. (1996): *Aflatoxin destruction by microwave heating*, «Intl. J. Food Sci. Nutri.», 47, pp. 197-208.
- FEDELE V., CIFUNI F.G., SEPE L., DI NAPOLI M.A. (2007): *Effect of two aflatoxin level treatments on contamination of Mozzarella di Bufale cheese*, «Ital. J. Anim. Sci.», 6 (suppl. 2), pp. 1120-1122.
- FINK-GREMMEIS J. (2008): *Mycotoxins in cattle feeds and carry-over to dairy milk: a review*, «Food Additives & Contaminants: Part A», 25, pp. 172-180.
- GALLO A., MASOERO F. (2010): *In vitro models to evaluate the capacity of different sequestering agents to adsorb aflatoxins*, «Italian Journal of Animal Science», 9, pp. 109-116.
- GALLO A., MASOERO F., BERTUZZI T., PIVA G., PIETRI A. (2010): *Effect of the inclusion of adsorbents on aflatoxin B1 quantification in animal feedstuffs*, «Food Additives & Contaminants: Part A», 27, pp. 54-63.
- GALLO A., MOSCHINI M., MASOERO F. (2008): *Absorption of the aflatoxins in the gastrointestinal tract of the lactating dairy cows and toxins passage through vaginal mucosa*, «Italian Journal of Animal Science», 7, pp. 53-63.
- GALVANO F., PIETRI A., BERTUZZI T., FUSCONI G., GALVANO M., PIVA A., PIVA G. (1996): *Reduction of carryover of aflatoxin from cow feed to milk by addition of activated carbons*, «J. Food Protection», 59, pp. 551-554.

- HOLESKI C.J., EATON D.L., MONROE D.H., BELLAMY G.M. (1987): *Effects of phenobarbital on the biliary excretion of aflatoxin P1-glucuronide and aflatoxin B1-S-glutathione in the rat*, «Xenobiotica», 17, pp. 39-153.
- LAFONT P., SARFATI J., JACQUET J., GAILLARDIN M., LAFONT J. (1983): *Influenza de facteurs pathologiques et nutritionnels sur l'élimination de l'aflatoxine par la memelle chez la vache*, «Microbiologie Aliments Nutrition», 1, pp. 293-300.
- MASOERO F., GALLO A., MOSCHINI M., PIVA G., DIAZ D. (2007): *Carry-over of Aflatoxin from Feed to Milk in Dairy Cows with Low or High Somatic Cell Counts*, «Animal», 1, pp. 1344-1350.
- MAZZETTE A., DECANDIA M., ACCIARO M., FENU A., DIAS FRANCESCONI A.H., BATTACONE G. (2009): *Excretion of aflatoxin M1 in milk of goats fed diet contaminated by aflatoxin B1*, «Ital. J. Anim. Sci.», 8 (suppl. 2), pp. 631-633.
- MIGLIORATI L., ABENI F., CATTANEO T.M.P., TORNIELLI C., PIRLO G. (2007): *Effects of adsorbents in dairy cow diet on milk quality and cheese-making*, «Ital. J. Anim. Sci.», 6 (suppl. 1), pp. 460-462.
- MOSCHINI M., GALLO A., PIVA G., MASOERO F. (2008): *The effects of rumen fluid on the in vitro aflatoxin binding capacity of different sequestering agents and in vivo release of the sequestered toxin*, «Animal Feed Science and Technology», 147, pp. 292-309.
- MOSCHINI M., MASOERO F., GALLO A., DIAZ D. (2007): *Mucosal absorption of aflatoxin B1 in lactating dairy cows*, «Italian Journal of Animal Science», 6 (suppl. 1), pp. 324-326.
- MUNKSGAARD L., LARSEN J., WERNER H., ANDERSEN P.E., VIU, B.T. (1987): *Carry over of aflatoxin from cows' feed to milk and milk products*, «Milchwissenschaft», 42, pp. 165-167.
- OLUWAFEMI F. (2004): *Fate of aflatoxin in cereals and cereal products during processing*, «J. Food Agr. Environ.», 2, pp. 33-60.
- PETTERSSON H., BERTILSSON J., WENNBERG O. (1989): *Carry-over of aflatoxin from dairy cattle feed to milk. Healthy animals, safe foods, healthy man*, "World Association of Veterinary Food Hygienists Xth Jubilee International Symposium", pp. 97-102.
- PHILLIPS T.D., CLEMENT B.A., PARK D.L. (1994): *Approaches to reduction of aflatoxins in foods and feeds*, in *The toxicology of aflatoxin: human health, veterinary and agricultural significance*, L.D. Eaton and J.D. Groopman (Eds.), Academic Press inc., San Diego, USA, pp. 383-406.
- PIETRI A., BERTUZZI T., FORTUNATI P., GUALLA A. (2003): *Excretion pattern of aflatoxins in buffalo milk and carry-over in mozzarella cheese*, «Ital. J. Anim. Sci.», 2 (suppl. 1), pp. 302-304.
- PIETRI A., BERTUZZI T., PIVA G., BINDER E.M., SCHATZMAYR D., RODRIGUES I. (2011): *Aflatoxin transfer from naturally contaminated feed to milk of dairy cows and the efficacy of a mycotoxin deactivating product*, «International Journal of Dairy Science», 4, pp. 34-42.
- PIVA G., BATTILANI P., PIETRI A. (2006): *Emerging issues in southern Europe: Aflatoxins in Italy*, in *The mycotoxin factbook – food and feed topics*, Barug D., Bhatnagar D., Van Egmond H.P., Van Der Kamp J.W., Van Osenbroggen W.A., Visconti A., Editors. Wageningen Academic Publishers, the Netherlands, pp. 139-153.
- PIVA G., GALVANO F., PIETRI A., PIVA A. (1995): *Detoxification methods of aflatoxins. A review*, «Nutrition Research», 15, pp. 767-776.
- PIVA G., PIETRI A., GALLO A. (2009): *Micotossine: fattore limitante nelle produzioni animali*, in *Micotossine nei cereali. Risultati del Progetto Interregionale "MICOCER"*, a cura

- di A.A.V.V., Accademia dei Georgofili, Atti della giornata di studio, Firenze 11 dicembre 2008, pp. 133-161.
- POLAN C.E., HAYES J.R., CAMPBELL T.C. (1974): *Consumption and fate of aflatoxin B₁ by lactating cows*, «J. Agric. Food Chem.», 22 pp. 635-638.
- POLONELLI L., GIOVATI L., MAGLIANI W., CONTI S., SFORZA S., CALABRETTA A., CASOLI C., RONZI P., GRILLI E., GALLO A., MASOERO F.; PIVA G. (2011): *Vaccination of lactating dairy cows for the prevention of aflatoxin B₁ carry over in the milk*, PLoS ONE 6: e26777. DOI:10.1371/journal.pone.0026777.
- SCUDAMORE K.A., LIVESY C.T. (1998): *Occurrence and significance of mycotoxins in forage crops and silage: a review.*, «J. Sci. Food Agric.», 77, pp. 1-17.
- STEINER J., BLUTHGEN A., HEESCHEN W.S.H. (1990): *Untersuchungen zur beeinflussung der ausscheidung von aflatoxin M₁ durch polychlorierte biphenyle beim laktierenden rind*, «Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte» (Abstract), 42, pp. 543-552.
- TRUCKSESS M.W., RICHARD J.L., STOLOFF L., MCDONALD J.S., BRUMLEY W.C. (1983): *Absorption and distribution patterns of aflatoxicol and aflatoxins B₁ and M₁ in blood and milk of cows given aflatoxin B₁*, «American Journal of Veterinary Research», 44, pp. 1753-1756.
- VAN EIJKEREN J.C.H., BAKKER M.I., ZEILMAKER D.M.J. (2006): *A simple steady-state model for carry-over of aflatoxins from feed to cow's milk*, «Food Addit. Contam.», 23, pp. 833-838.
- VELDMAN A., MEIJS J.A.C., BORGGREVE G.J., HEERES VAN DER TOL J.J. (1992): *Carry-over of aflatoxin from cows' food to milk*, «Animal Production», 55, pp. 163-168.
- WESTLAKE K., MACKIE W.M., DUTTON M. (1989): *In vitro metabolism of mycotoxins by bacterial, protozoal and ovine ruminal fluid preparations*, «Anim. Feed Sci. Technol.», 25, pp. 169-178.
- WOGAN G.N., HSIEH D.P.H. (1980): *The comparative metabolism and toxicokinetics of aflatoxin B₁ in the monkey, rat and mouse*, «Toxicol. Appl. Pharmacol.», 55, pp. 115-125.
- YIANNIKOURIS A., JOUANY J.P. (2002): *Mycotoxins in feeds and their fate in animals: a review*, «Animal Research», 51, pp. 81-99.
- YOUSEF A.E., MARTH E.H. (1989): *Stability and degradation of AFM₁*, in *Mycotoxins in dairy products*, Edited by van Egmond, London: Elsevier Applied Science Publishers, Inc., January 1989, pp. 127-162.