

## Il progetto SANCAST: analisi qualitativa e quantitativa di afla- e ocratossine in castagne nelle diverse fasi del processo di conservazione

Giorgia Bastianelli\*, Carmen Morales Rodriguez, Maria Pia Aleandri, Andrea Vannini

Dipartimento per l'Innovazione nei sistemi Biologici, Agroalimentari e Forestali, Università degli Studi della Tuscia

### Introduzione

I danni da insetti e le contaminazioni da funghi rappresentano le principali cause di perdita di qualità e commerciabilità della castagna fresca (Moschetti *et al.*, 2014). Molti dei miceti responsabili di marciumi e contaminazioni, sono anche produttori di micotossine. Sin dalla scoperta delle Aflatossine (AFs) negli anni '60 e del loro potenziale pericolo per la salute di uomini ed animali, negli anni si è fatto sempre maggiore l'interesse nei funghi produttori di micotossine nelle derrate alimentari, in particolare nei cereali, nella frutta secca e nel vino. Le micotossine sono metaboliti secondari prodotti da un'ampia gamma di specie fungine, generalmente saprofiti ed opportunistici, ma gran parte delle micotossine contaminanti i cibi sono prodotte da tre generi fungini: *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium* (Donis-González *et al.*, 2016; Prencipe *et al.*, 2018). Ad oggi, tra le micotossine più ampiamente studiate si annoverano non solo le aflatossine, ma anche ocratossine (OTA), fumonisina, patulina, zearalenone e citrina. La Commissione Europea (CE) ha suggerito un limite massimo per le principali micotossine nelle varie derrate alimentari. Per quanto riguarda la frutta secca per il consumo umano, tra cui rientrano anche le castagne, sono stati fissati limiti solo per le aflatossine totali e per l'aflatossina B<sub>1</sub>, con limiti rispettivamente di 4 e 2 µg kg<sup>-1</sup> (Reg. UE n. 165/2010 della Commissione). Riguardo le ocratossine invece, ad oggi non esistono limiti massimi per la frutta secca. Dal momento che la contaminazione fungina e quindi la conseguente produzione di micotossine, variano con le condizioni ambientali in cui il prodotto è trattato, è importante monitorare le condizioni del prodotto lungo tutta la filiera, in particolare nelle fasi pre/post raccolta e conservazione, al fine di ottenere un prodotto salubre per il consumo umano (Sieber *et al.*, 2007).

Lo scopo di questo lavoro è stato quello di indagare e comprendere l'impatto della contaminazione fungina e la conseguente presenza di micotossine (AFs e OTA) sulle castagne in post raccolta nelle diverse fasi di processo in un impianto industriale per la lavorazione, conservazione e commercializzazione del prodotto.

### Materiali e metodi

La presenza di aflatossine ed ocratossine è stata misurata in campioni di castagne prelevate al termine delle seguenti fasi: 1) conferimento in stabilimento; 2) cura in acqua fredda; 3) flottazione; 4) sterilizzazione; 5) cernita manuale; 6) conservazione in cella ozonata. Sulle castagne prelevate ad ogni fase sono state fatte analisi per valutare la carica microbica ed il contenuto in micotossine al tempo 0 e dopo 30 giorni di conservazione a 5°C. Le analisi delle micotossine sono state condotte separatamente sul pericarpo e sulla polpa del frutto, utilizzando il kit ELISA quantitativo VERATOX per Aflatossine HS (B1, B2, G1 e G2) e per Ocratossine HS. La popolazione dei miceti associati al frutto è stata determinata con metodi microbiologici e di barcoding molecolare. Per ciascuna delle 6 fasi di processo, i frutti sono stati prelevati ed aperti per la valutazione del marciume interno.

### Risultati e discussione

I risultati degli isolamenti dei frutti analizzati mostrano che la comunità fungina non varia tra le diverse fasi di processo; tra le specie fungine identificate si annoverano *Gnomoniopsis castaneae* (fig. 1), *Colletotrichum lupini*, *Fusarium* sp., *Talaromyces coalescens*, *P. echinulatum*, *Penicillium* sp., *P. glabrum*, *Sclerotinia pseudotuberosa*. Differenze significative sono state invece riscontrate nella percentuale di marciume dei frutti al momento del conferimento, rispetto agli stessi frutti conservati per 30 giorni in

\* giorgiabastianelli93@gmail.com

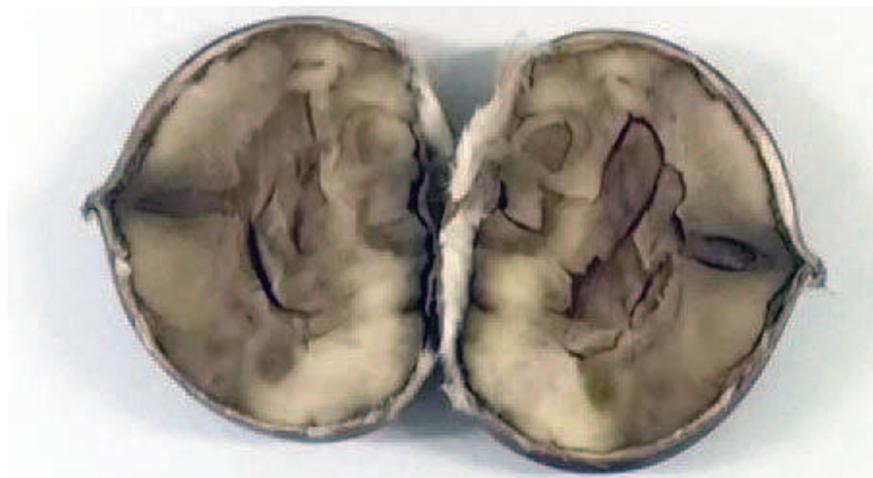


Fig. 1 - Castagna con tipici sintomi causati da *Gnomoniopsis*.

cella a 5°C, per ciascuna fase. All'interno delle stesse tesi conservate 30 giorni, sono state trovate differenze significative tra la fase 2 della filiera (curatura in acqua fredda) e le fasi 1 (conferimento in stabilimento) e 3 (flottazione).

I risultati delle analisi dell'acqua di sterilizzazione e di raffreddamento dei frutti hanno evidenziato che la popolazione fungina dell'acqua di sterilizzazione a 50°C risulta significativamente maggiore rispetto all'acqua di raffreddamento a 25°C, con una concentrazione di 926 e 340 CFU mL<sup>-1</sup> rispettivamente (fig. 2). I funghi isolati comprendono *P. echinulatum*, *Cladosporium* sp., *Coniochaeta* sp., *Trichoderma* sp., *P. glandicola*, *Talaromyces amestolkiae*, *Penicillium* sp. e *Geotrichum candidum*.

Sia per l'analisi quantitativa delle aflatossine che delle ocratossine, non sono state trovate differenze signifi-

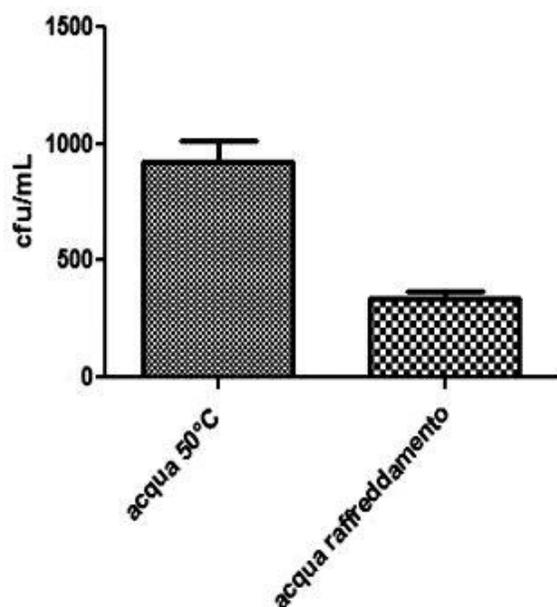


Fig. 2 - CFU dell'acqua di sterilizzazione (50°C) e dell'acqua di raffreddamento delle castagne.

cative tra i campioni della polpa del frutto, né sono stati riscontrati valori superiori a 4 µg kg<sup>-1</sup>, limite massimo per le aflatossine nella frutta secca (dati non mostrati). Diversa invece la situazione per i campioni del pericarpo, i quali, pur essendo nei limiti di legge, hanno mostrato differenze significative per la presenza di aflatossine (fig. 3) ed ocratossine (fig. 4) tra i campioni a tempo 0 e a 30 giorni di conservazione, in particolare per le fasi 2 (curatura in acqua fredda) e 5 (cernita manuale).

La contaminazione da funghi e da micotossine è uno dei maggiori problemi nella produzione di castagne ed è soprattutto dovuta a condizioni di conservazione post raccolta non idonee (Rodrigues *et al.*, 2012). I risultati di questo lavoro mostrano che, lungo la filiera di trattamento, i frutti passano attraverso fasi criti-

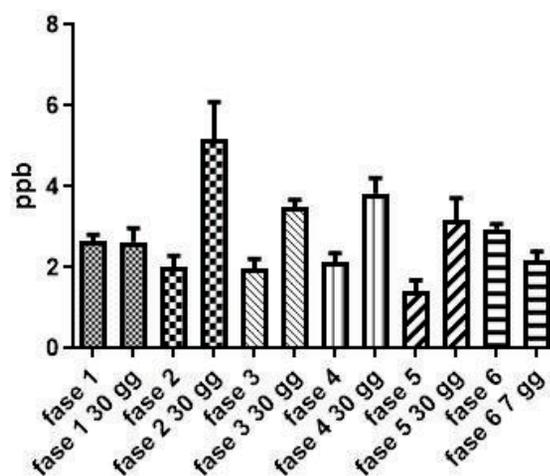


Fig. 3 - Analisi quantitativa delle aflatossine totali nel pericarpo durante le fasi della filiera di trattamento della castagna, al momento del conferimento e dopo 30 giorni di conservazione a 5°C; 1) conferimento in stabilimento; 2) curatura in acqua fredda; 3) flottazione; 4) sterilizzazione; 5) cernita manuale; 6) conservazione in cella ozonata.

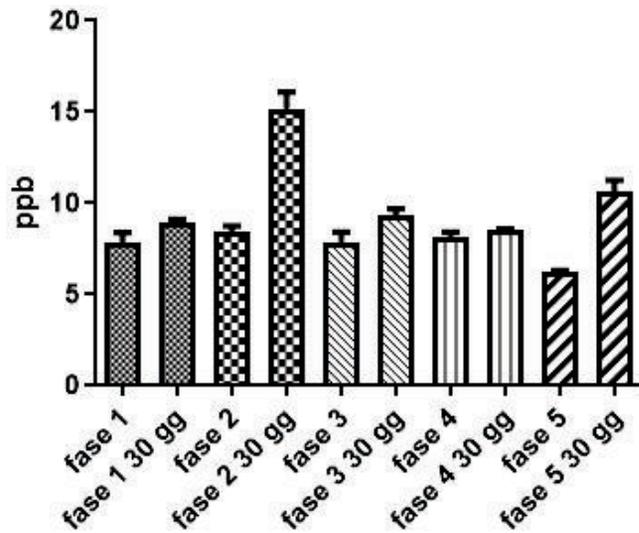


Fig. 4 - Analisi quantitativa delle ocratossine totali durante le fasi della filiera di trattamento della castagna, al momento del conferimento e dopo 30 giorni di conservazione a 5°C; 1) conferimento in stabilimento; 2) curatura in acqua fredda; 3) flottazione; 4) sterilizzazione; 5) cernita manuale.

che dal punto di vista della salubrità del prodotto. Alcune fasi, inserite nella filiera con lo scopo di abbattere la contaminazione da funghi presente già all'entrata dell'impianto industriale, sembrano in realtà incrementarla. Ciò è visibile soprattutto dall'alto livello di contaminazione microbica dell'acqua di sterilizzazione, nonostante questa sia, nell'impianto industriale da cui sono stati presi i campioni, già la quarta fase di trattamento del frutto, preceduta da curatura in acqua fredda e flottazione. Dai grafici si evince inoltre che la curatura in acqua fredda, la flottazione e la sterilizzazione, così come la conservazione in cella fredda per periodi più o meno lunghi, sono tutte fasi della filiera che, se mal gestite, possono incrementare sia il marciume totale che la quantità di micotossine del frutto, portando sia a perdite di produ-

zione che a perdite di qualità del prodotto. A valle della filiera, la fase di cernita manuale sembra anch'essa superflua nell'abbattere la contaminazione da funghi, soprattutto nel caso quest'ultima sia occulta. Dal momento che risulta difficile eliminare la contaminazione a posteriori, è importante ampliare le conoscenze sulla diversità della popolazione fungina che colonizza i frutti in pre raccolta e allo stesso tempo intervenire lungo tutta la filiera e migliorare le condizioni di trattamento e conservazione della castagna, al fine di ridurre il rischio di contaminazione da funghi e da micotossine in post raccolta. I risultati ottenuti, seppur preliminari, sono funzionali all'applicazione mirata di metodi a basso impatto di contenimento delle popolazioni di miceti responsabili della produzione di micotossine su derrate alimentari. Sono tuttavia necessari ulteriori studi, sia in microcosmo che a livello di impianto industriale, per una migliore comprensione dei punti critici di contaminazione da funghi e da micotossine nella filiera della castagna.

## Bibliografia

- DONIS-GONZÁLEZ I.R., GUYER D.E., FULBRIGHT, D.W., 2016. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 96, 4514-4522.
- MOSCETTI R., MONARCA D., CECCHINI M., HAFF R.P., CONTINI M., MASSANTINI R., 2014. *Postharvest Biology and Technology* 93: 83-90.
- PRENCIPE S., SICILIANO I., GATTI C., GARIBALDI A., GULLINO M. L., BOTTA R., SPADARO D., 2018. *Food microbiology* 76, 396-404.
- Regolamento (UE) n. 165/2010 della Commissione, del 26 febbraio 2010, recante modifica, per quanto riguarda le aflatoxine, del regolamento (CE) n. 1881/2006 che definisce i tenori massimi di alcuni contaminanti nei prodotti alimentari, GU L 50 del 27.2.2010, pagg 8-12.
- RODRIGUES P., VENÂNCIO A., LIMA N., 2012. *Food Research International* 48, 76-90.
- SIEBER T., JERMINI M., CONEDERA M., 2007. *Journal of Phytopathology* 155, 497-504.