

OCRATOSSINA A NEL VINO

Indice

1. Cosa è e chi lo produce?
2. Che danno causa?
3. Perché c'è nel vino?
4. Come combatterlo?
5. Come determinarlo?
6. Quale è il LIMITE LEGALE?
7. Bibliografia

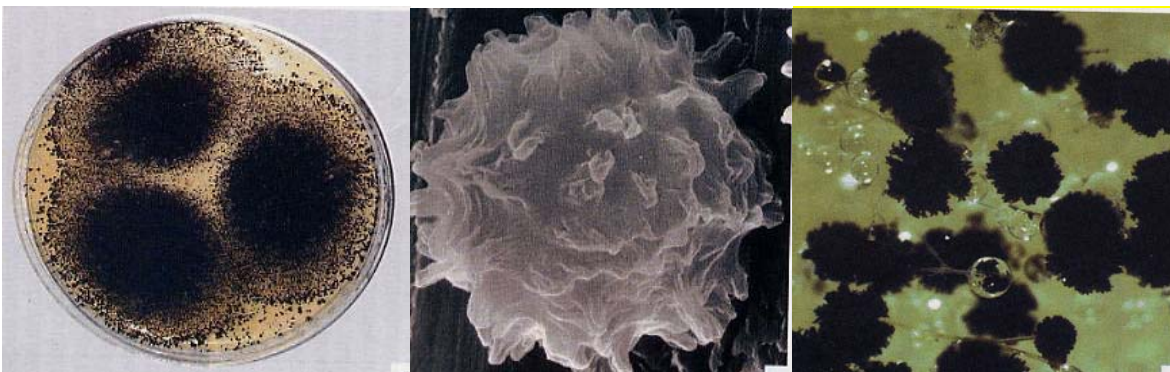
A cura di: **Ana María Moar Grobas**
Responsabile di laboratorio

1. Cosa è e chi lo produce?

L'ocratossina A (OTA) è un metabolita secondario prodotto sopra tutto da muffe dei generi *Aspergillus* e *Penicillium*; le prime osservazioni indicavano una maggiore diffusione degli *Aspergillus* nelle zone meridionali e degli *Penicillium* nelle zone settentrionali.

Inizialmente erano stati ritenuti responsabili della presenza di OTA nel vino *Aspergillus ochraceus* e *Penicillium viridicatum*, a lungo studiati in quanto presenti nei cereali.; in realtà, *Aspergillus ochraceus* ha una incidenza poco rilevante (nelle uve appassite).

Attualmente come responsabili del problema OTA sono indicati gli *Aspergillus* della sezione Nigri (sviluppano una muffa nera) specialmente *Aspergillus carbonarius* (quelli isolati nell'uva sono in alta percentuale produttori di OTA e ne producono quantità notevoli in tempi brevi).Le immagine a continuazione mostrano una cultura su piastra di questa muffa e particolari dei micetti



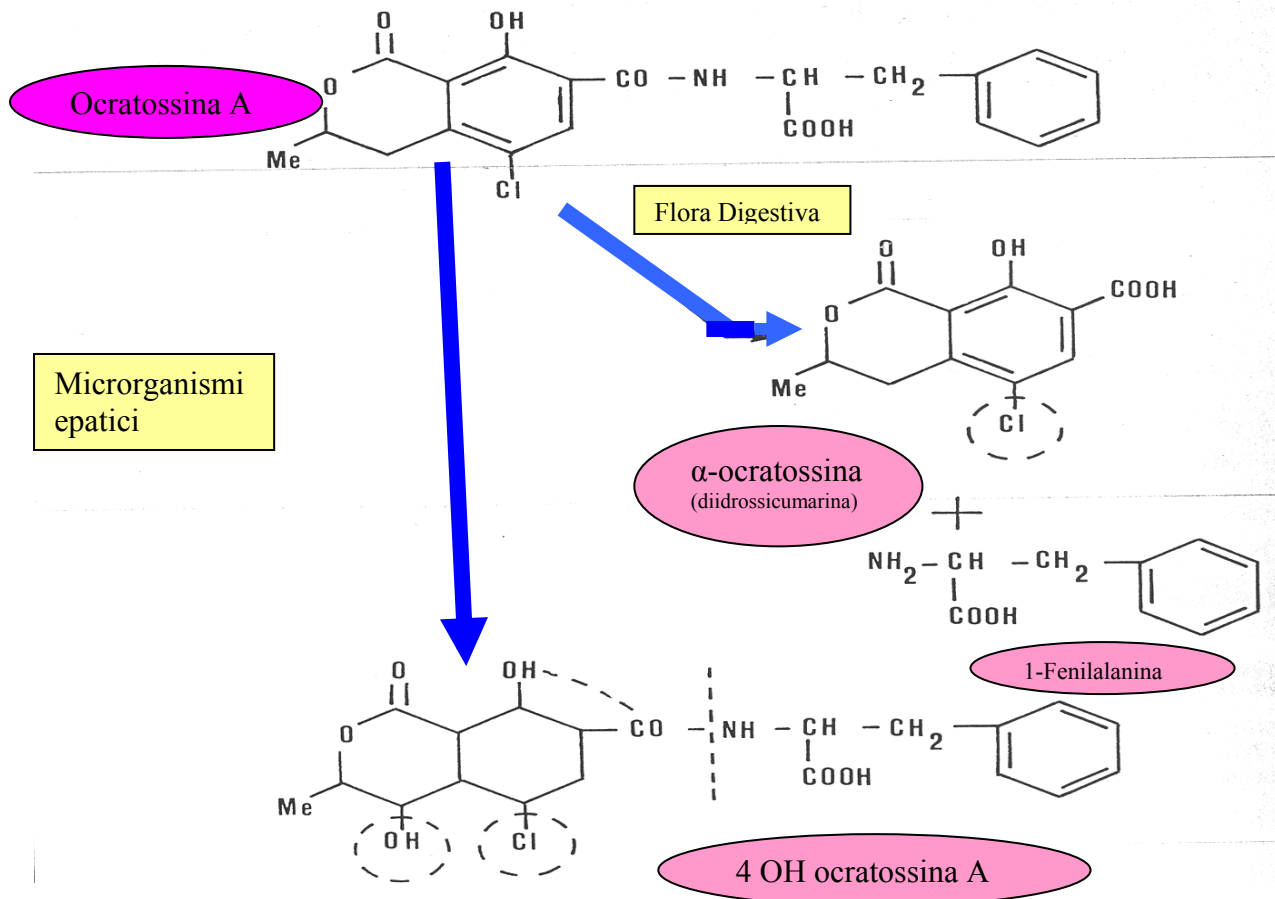
La OTA è una molecola costituita dalla combinazione dell'acido 7-carbossil-5-cloro-8-idrossil-3,4-diidro-3-metil isocumarinico con la fenilalanina tramite legame peptidico



2. Che danno causa?

La presenza di un estere eterociclico coniugato ad un anello benzenico è comune a moltissimi metaboliti tossici elaborati da miceti patogeni. Le micotossine che possiedono questa struttura hanno una attività biologica antagonista nei confronti della cellula animale.

Una volta nel organismo umano a livello digestivo subisce una trasformazione a carico della flora digestiva e di quella epatica secondo quanto indicato nel diagramma seguente:



I principali danni che può provocare all'organismo umano sono indicati a continuación:

- ❖ Azione epatotossica
 - Interferiscono sul sistema enzimatico della fosforilasi incrementando il glicogeno
 - Agglutinazione delle emazie
 - Interferisce nell'assorbimento della vitamina D₃
- ❖ Azione nefrotossica
 - Coinvolta come fattore nella nefropatia endemica dei Balcani, malattia associata allo sviluppo di tumori del tratto urinario.
- ❖ Azione teratogena e genotossica
 - Agenti di conversione degli steroidi provocando sindromi abortive.
 - I piccoli nati da madri intossicate con OTA non hanno raggiunto un pieno sviluppo con chiari sintomi di fragilità ossea.
- ❖ Azione immunodepressiva
- ❖ Azione cardiottossica
 - Provoca delle ulcere cardiache.
- ❖ Azione neurotossica
- ❖ Paralisi e arresti respiratori

3. Perché c'è nel vino?

Gli *Aspergillus* della sezione Nigri (i black *Aspergillus*) si conservano principalmente nel terreno e sono generalmente presenti in tutte le aree di coltivazione della vite.

La colonizzazione dei grappoli avviene molto precocemente ed è già possibile dall'allegagione ma l'incidenza è più rilevante dal inizio della invaiatura. La penetrazione all'interno delle bacche avviene di solito quando sono danneggiate (scoppio degli acini, colpi, punture d'insetti...) ma, se la concentrazione del inoculo è molto alta, possono penetrare anche in bacche senza lesioni evidenti.

Così i grappoli senza sintomi possono contenere OTA, ma nelle bacche danneggiate, soprattutto con la presenza di muffa nera, le quantità possono essere molto elevate. In particolare, i grappoli colpiti da tignoletta (*Lobelia botrana*) sono molto suscettibili a questi funghi e, a parità di condizioni, mostrano una più elevata concentrazione di OTA.

Nelle immagini sottostanti si può osservare l'attacco di tignoletta su un grappolo e gli acini d'uva colpiti di *Aspergillus carbonarius*.



Lo sviluppo di queste muffe è possibile in condizioni di umidità dell'aria comprese tra il 72 ed il 90%, ed a temperatura tra 12 e 39°C (temperatura ottimale a 28°C)

Da un studio realizzato dall'UNIVINS nel '98 e nel '92 su un totale di 1247 vini è emerso che:

- Il 75% dei vini non presentavano livelli rilevabili di OTA e il 17% era sotto di 0.5 ppb
- L'OTA si può trovare in tutte le tipologie di vino (bianco, rosso, rosati e passiti)
- Normalmente nel vino bianchi il tenore di OTA è inferiore rispetto a quello dei vini rossi.
- Le concentrazioni superiori di OTA si riscontrano nei vini del bacino mediterraneo

I monitoraggi svolti dal 2001 al 2003 in Europa (progetto "Wine-Ochra Risk" finanziato dalla CE) hanno segnalato il Sud della Francia e la Grecia come le zone di maggiore incidenza dei Black *Aspergillus*, (percentuale superiore al 85%) seguite dal Sud Italia e dal Sud della Spagna (percentuale tra il 50 e il 85%).

Inoltre l'incidenza dei black *Aspergillus* è stata minima nel 2002 (anno fresco e piovoso) e massima nel 2003 (anno caldo e secco)

La presenza dell'ocratossina A è stata anche segnalata in altri paesi produttori di vino come Israele (con una percentuale d'incidenza superiore al 85%), Australia, Sudafrica...

4. Come combatterlo?

Nel vigneto

La sintesi della tossina avviene solo prima della raccolta. La prevenzione si basa in una corretta gestione della difesa fitosanitaria; infatti, diversi funghi e insetti possono causare rotture sugli acini e alcuni insetti sembrano favorire particolarmente i black Aspergillus. Pertanto una corretta difesa del vigneto è il primo elemento per la prevenzione della presenza di OTA nei grappoli.

Tuttavia, non sono per il momento consigliati interventi specifici contro i black Aspergillus già che le prove effettuate in vitro necessitano di conferma in campo prima della loro diffusione.

I punti di controllo in questa fase si limitano alle fasi di invasatura e maturazione, nelle quali bisogna controllare i funghi, e in prossimità della raccolta, nella quale si controlla l'OTA

Durante la raccolta.

E' necessario gestire i grappoli in maniera tempestiva, evitare le permanenze prolungate su piazzali e quindi esposizioni a temperature utili per l'attività del fungo.

La permanenza del prodotto raccolto a elevate temperature è da ritenere un fattore molto negativo. Prove in vitro hanno evidenziato una notevole capacità di sintesi della tossina da parte di Aspergillus carbonarius che può arrivare a produrre da 5 a 10 ppb/giorno con temperature intorno a 15°C e 30 ppb/giorno se la temperatura è intorno a 25°C.

La conservazione a 0°C e in presenza di SO₂ riduce notevolmente la presenza dei black Aspergillus sull'uva il che evita un incremento di OTA dopo la raccolta.

Le uva particolarmente attaccate da Botrytis e da Oidio e quelle imbrattate di terra sono a rischio per l'OTA.

Nella cantina.

Durante la vinificazione l'OTA non è prodotta, ma ciascuna delle operazioni ne può modificare il contenuto. I punti di controllo possono essere individuati dopo ogni operazione anche se un contenuto basso di OTA nel mosto è già garanzia di un prodotto idoneo.

Durante la pigiatura l'OTA passa nel succo, ma la macerazione determina un incremento della sua concentrazione.

Le fermentazioni, soprattutto la malolattica, riducono il contenuto di OTA con un meccanismo non ancora molto chiaro (si presume mediante assorbimento e posteriore degradazione da parte dei microrganismi coinvolti). Durante la vinificazione possono essere scelti ceppi di lieviti e batteri lattici da aggiungere con l'obiettivo di abbattere il contenuto di OTA.

L'OTA può essere adsorbita da prodotti specifici, legalmente commercializzati nell'industria alimentare:

- Certi carboni.- Il problema è la contemporanea riduzione di profumi e colore, particolarmente nei vini rossi più ricchi in OTA
- Bentonite
- Prodotti a base di fibre vegetali modificate.- Aggiunti in fase di fermentazione tendono ad adsorbire l'OTA e gli acidi grassi a lunga catena che poi vengono eliminati con le fecce.

Va poi posta una particolare attenzione ai tappi ed alle barriques in particolare non ben stoccate; Aspergillus, Penicillium ed altri funghi potrebbero trovare un buon terreno di sviluppo.

I principali punti da considerare nella gestione del problema OTA sono riassunti nella seguente tabella:

VIGNETO	✓ Corretta gestione della lotta fitosanitaria
RACCOLTA	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Gestire i grappoli in maniera tempestiva. ✓ Evitare le permanenze prolungate su piazzali. ✓ Evitare esposizioni ad alte temperature.
CANTINA	<ul style="list-style-type: none"> ✓ L'OTA non è prodotta durante la vinificazione. ✓ Le operazioni di cantina possono modificare il contenuto. ✓ Scegliere ceppi di lieviti e batteri lattici per abbattere il contenuto on OTA. ✓ L'OTA può essere adsorbita da prodotti specifici ✓ Attenzione ai tappi ed alle barriques

5. Come determinarlo?

Metodica di prelievo del campione per l'analisi.

La **direttiva 2005/5/CE**, vista la introduzione del tenore massimo di OTA per alimenti non contemplati dal Regolamento n°466/2001, modifica la Direttiva 2002/26/CE e definisce i metodi di prelievo dei campioni per il controllo ufficiale di tali categorie di alimenti.

Nel caso dell'uva e del succo d'uva, i campioni elementari devono avere un peso simile fra loro; inoltre, ogni campione deve pesare almeno 100 g per formare un campione globale da 1 Kg, ad eccezione dei casi in cui il campione sia rappresentato da 1 bottiglia.

Il numero minimo di campioni elementari da prelevare è determinato in funzione della forma di commercializzazione e dal peso della partita in litri.

Nel caso di prodotti sfusi devono essere prelevati almeno 3 campioni elementari che verranno poi mescolati adeguatamente in modo di presumere che l'ocratossina A presente sia omogeneamente distribuita.

Metodica d'analisi.

L'ocratossina A viene determinata mediante un **test immuno-enzimatico basato sulla tecnica ELISA**.

I vantaggi di questa tecnica sono:

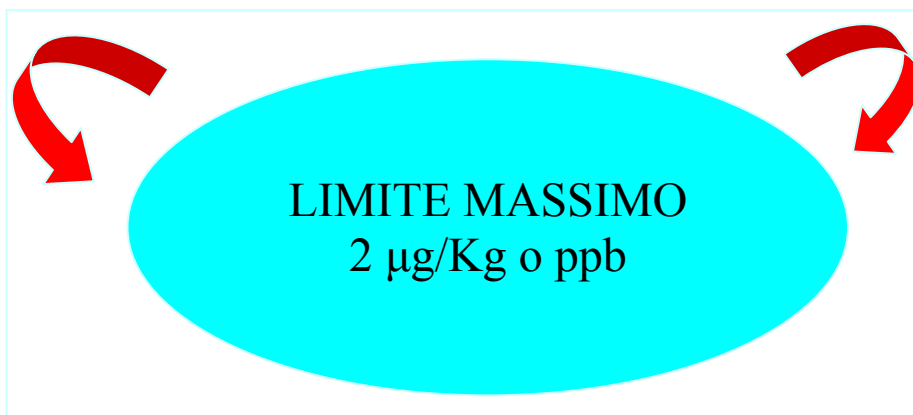
- Non c'è bisogno di preparazione specifica del operatore di laboratorio => **tecnica comune**
- Il test è stato confrontato con le tecniche di HPLC/ fluorescenza e GC/MS => **risultati precisi e accurati**
- Preparazione del campione ridotta ad una semplice estrazione => **poca manipolazione del campione**
- Tempi di saggio e Possibilità di analizzare decine di campioni contemporaneamente contenuti => **velocità di consegna dei risultati**

6. Quale è il LIMITE LEGALE?

Sulla Gazzetta Ufficiale delle CE L25 del 28.01.2005 è stato pubblicato il **Regolamento CE n°123/2005** della Commissione del 26.01.2005, il quale modifica il Regolamento CE 466/2001, che definisce i tenori massimi di taluni contaminanti presente nelle derrate alimentari, per quanto riguarda l'ocratossina A.

Un'importante novità apportata dal regolamento 123/2005 è l'introduzione di limiti massimi di OTA nel settore vinicolo. Questo valore fa riferimento a:

- Vini bianco, rosso e rosé.
Inclusi.- Vini frizzanti
Esclusi.- Vini liquorosi
Vini con un tenore alcolico pari o superiore a 15%vol
- Vini aromatizzati
- Bevande a base mosto d'uva
- Bevande aromatizzate a base vini
- Cocktail aromatizzati a base di prodotti vitivinicoli
- Succo d'uva
- Ingredienti a base succo d'uva utilizzate per la preparazione di altre bevande. Incluso nettare d'uva e succo d'uva concentrato ricostituito



Questo valore si applica ai **prodotti fabbricati successivamente al raccolto 2005**

7. Bibliografia

- ✚ “Ocratossina A nei vini: Stato delle conoscenze”. Rousseau. Vinidea.Net. Rivista tecnica del vino 2004 N°1
- ✚ “Ocratossina, dall'uva al vino”. Battilani, Pietri e Silva. Supplemento a L'informatore Agrario 12/2005 Pag 17 a 19
- ✚ “I metabolici tossici fungini.- Biogenesi, biotossicità, analitica quali quantitativa, decontaminazione” Cirilli. Laboratorio di chimica Applicata – Bologna
- ✚ “Fissati i limiti massimi per l'ocratossina A”. Castaldi L'informatore Agrario 6/2005
- ✚ Regolamento CE n°123/2005 della Commissione del 26.01.2005 Gazzetta Ufficiale delle CE L25 del 28.01.2005
- ✚ Direttiva 2005/5/CE Gazzetta Ufficiale delle CE 29.01.2005
- ✚ “Effetto dei lieviti sull'ocratossina A durante il processo fermentativo” Farris et all

✚ “Gestione del rischio ocratossina A nella vinificazione”. Silva et all. Istituto di Enologia e Ingegneria Agro-Alimentare. Università del Sacro Cuore (Piacenza)