

RIMOZIONE DELLA AFLATOSSINA M₁ E POTENZIALI APPLICATIVI DI UNA LACCASI DA *PLEUROTUS ERYNGII* PER LA SICUREZZA DEL LATTE

Martina LOI^{1,2*}, Laura QUINTIERI¹, Francesca FANELLI¹, Vania C LIUZZI¹, Miriam HAIDUKOWSKI¹, Antonio F LOGRIECO¹, Giuseppina MULÈ¹.....23-32

* Corrispondenza ed estratti martina.loi@ispa.cnr.it

¹ Istituto di Scienze delle Produzioni Alimentari, Consiglio Nazionale delle Ricerche (ISPA-CNR), via Amendola 122/O, 70126 Bari, Italia

² Dipartimento di Economia, Università degli Studi di Foggia. Via Napoli 25, 71122 Foggia, Italia

RIASSUNTO - L'aflatossina M₁ (AFM₁) è il principale metabolita derivante dall'idrossilazione dell'aflatossina B₁ (AFB₁) presente nel latte di animali alimentati con mangimi contaminati da AFB₁ ed è classificato nel gruppo 2B, potenzialmente cancerogeno per l'uomo, dall'Agenzia Internazionale per la Ricerca sul Cancro (IARC). Il livello limite della AFM₁ nel latte crudo, trattato termicamente e destinato alla produzione di prodotti a base di latte è fissato a 50ng/kg dal regolamento europeo numero 1881 del 2006. Essendo resistente ai comuni trattamenti dell'industria alimentare, la presenza di AFM₁ è documentata in tutti i prodotti della filiera lattiero casearia, inclusi yogurt e formaggi, e rappresenta un serio pericolo per la salute. Lo sviluppo di metodi per la riduzione della contaminazione di aflatossine è un tema cruciale e attuale, ed è complicato dalla necessità di preservare le qualità organolettiche e nutrizionali della matrice trattata. In questo lavoro è stata valutata la capacità degradativa di una laccasi da *Pleurotus eryngii* verso l'AFM₁, sia in buffer che in latte, ed il suo effetto sulla componente proteica di questa matrice al fine di verificarne l'applicazione per il miglioramento della sicurezza di prodotti lattiero caseari. La riduzione di AFM₁ in buffer di sodio acetato pH 6,5 1mM, a 25°C, è di ca 50% dopo 1h di incubazione e risulta completa dopo 72h. Simili risultati sono stati ottenuti in latte, sebbene la cinetica di degradazione abbia registrato un rallentamento nelle prime tre ore di trattamento. L'analisi dei pattern proteici in SDS-PAGE ha evidenziato una riduzione nell'intensità delle bande di α e β caseine, di β-lattoglobulina e sieralbumina bovina, contemporaneamente alla comparsa di aggregati proteici di peso molecolare superiore ai 200kDa. I dati presentati dimostrano il potenziale applicativo della laccasi per lo sviluppo di metodologie green di degradazione di AFM₁ in prodotti a base di latte e per applicazioni tecnologiche volte al miglioramento della reologia e alla riduzione della componente allergenica in prodotti lattierocaseari. Parole chiave: sicurezza, latte, laccasi, aflatossina M₁, cross-link di proteine, reologia del latte, allergeni

ABSTRACT - Aflatoxin M₁ removal and potential applications of a laccase enzyme from *Pleurotus eryngii* for milk safety - Aflatoxin M₁ (AFM₁) is the main catabolite deriving from the hydroxylation of aflatoxin B₁ (AFB₁), found in the milk of animals fed with AFB₁ contaminated feeds. The International Agency for the Research on Cancer (IARC) has classified it in group 2B, thus possibly carcinogenic for humans. Their maximum limit in raw milk, heat-treated milk and milk for the manufacture of milk-based products, has been set by the Regulation (EC) 1881 of 2006 to 50ng/kg. AFM₁ resists to the most common treatments of food industry and persists in processed product. Its occurrence has been registered throughout the whole dairy supply chain, including yogurts and cheeses, and it represents a serious risk for humans and animals. The development of mild, green and efficient methods for AFM₁ degradation is an actual and crucial topic. Aflatoxins degradation is difficult to achieve since they must not affect the organoleptic and nutritional qualities of food. In this work we evaluated the activity of a fungal laccase from *Pleurotus eryngii* for the degradation of AFM₁ in buffer solution and in skimmed UHT milk. We also analyzed the effects on the protein pattern of milk in order to evaluate its application for the improvement of the safety of milk based products. AFM₁ degradation in sodium acetate buffer (pH 6.5 1mM at 25°C) was nearly 50% after one hour and complete after 72h. The same trend was registered in skimmed UHT milk, although with a lower rate of degradation, at least during the first three hours of treatment. The analysis of the protein pattern revealed that the intensity of α e β caseins, β-lactoglobulin and bovin sieroalbumin electrophoretic bands significantly decreased, while the appearance of protein aggregates of molecular weight higher than 200kDa was detected. These results highlight several potential applications of this laccase for the development of green detoxification methods towards AFM₁ in milk, and also for the improvement of the rheological, emulsifying and allergenic properties of milk and dairy products.

Keywords: safety, milk, laccase, aflatoxin M₁, protein cross-linking, milk texture, allergenicity