

## Presenza naturale di formaldeide negli sporofori di *Lentinula edodes*

**Paolo Davoli**

Dipartimento di Chimica, Università di Modena e Reggio Emilia  
Via Campi 183 – 41100 Modena  
e-mail: <paolo-davoli@libero.it>

**Nicola Sitta**

Loc. Farnè 39 – 40042 Lizzano in Belvedere (BO)  
e-mail: <nicolasitta@libero.it>

### RIASSUNTO

Gli Autori riassumono i dati delle ricerche riguardanti la presenza di formaldeide in uno dei funghi più consumati al mondo, lo shiitake (*Lentinula edodes*). La presenza di formaldeide appare dovuta a fattori naturali endogeni e non a contaminazione chimica ad opera dell'uomo. L'ipotesi più accreditata considera la formaldeide un sottoprodotto della biosintesi della lenthionina, composto volatile solforato responsabile del particolare aroma dello shiitake che si forma per degradazione enzimatica dell'acido lentinico negli sporofori di *L. edodes*. La formaldeide, sostanza ritenuta cancerogena per inalazione, non viene tuttavia considerata pericolosa per l'uomo alle concentrazioni normalmente presenti nell'acqua potabile e in altri alimenti con i quali viene ingerita. In tal senso, autorità sanitarie quali il BgVV tedesco e la FSA britannica hanno già riconosciuto che l'assunzione di formaldeide con la dieta ai livelli riscontrati nei funghi della specie *Lentinula edodes* (100–300 mg/kg di peso fresco) non debba ritenersi pericolosa per la salute umana.

KEYWORDS: formaldehyde, *Lentinula edodes*, shiitake, lenthionine, edible mushrooms.

### INTRODUZIONE

La formaldeide (o aldeide formica, HCHO) è un composto chimico utilizzato quale materia prima per innumerevoli applicazioni industriali. È un gas incolore dall'odore pungente e irritante. Si prepara industrialmente per ossidazione catalitica del metanolo in fase gassosa, ma costituisce anche un sottoprodotto di numerosi processi, sia naturali che antropici, tra cui i processi di combustione dei materiali organici. A bassi livelli viene prodotta dalla maggior parte degli organismi viventi quale intermedio metabolico ed esiste un vero e proprio ciclo naturale della formaldeide nei sistemi biologici, dove questa molecola svolge un ruolo importante in reazioni di metilazione e demetilazione. Conseguentemente, la formaldeide risulta pressoché ubiquitaria nell'ambiente e può essere rinvenuta in un'ampia gamma di cibi, sebbene in quantità modeste (TRÉZL & AL. 1997; ADRIAN-ROMERO & AL. 1999).



***Lentinula edodes*** (Berk.) Pegler  
Lussureggiante fruttificazione di esemplari coltivati.  
(Foto P. Ceccon)

Per le sue proprietà disinfettanti, la formaldeide trova applicazioni anche in fungicoltura per la disinfezione degli impianti di coltivazione. Da segnalare è anche la possibilità di un suo utilizzo fraudolento sui funghi essiccati quale conservante.

*Lentinula edodes*, fungo noto in tutto il mondo come *shiitake*, è di origine asiatica ed è lignicolo con crescita su latifoglie (in prevalenza *Quercus* spp. e altre *Fagaceae*); lo stesso nome giapponese *shiitake* (シイタケ) fa riferimento proprio all'habitat tipico di questa specie fungina, la *Castanopsis cuspidata* (Thunb.) Schottky (in giapponese シイ = *shii*), una fagacea sulla quale cresce spontaneamente nelle foreste del Giappone (mentre invece タケ = *take* significa 'fungo') (KAWAGOE, 1925; PEGLER 2003). Essendo molto apprezzato per le sue caratteristiche organolettiche, lo shiitake viene coltivato in enormi quantitativi in Cina e Giappone, dove è utilizzato anche in virtù delle proprietà medicinali che gli vengono ascritte (MIZUNO 1995; PEGLER 2003). Tra i suoi costituenti, infatti, vanno annoverati il polisaccaride lentinano, un (1→3)-β-D-glucano ramificato ad alto peso molecolare a cui sono attribuite proprietà antitumorali (si veda ISRAILIDES & AL. 2008), l'eritadenina (o lentinacina), alcaloide purinico ad effetto ipocolesterolemizzante (ENMAN & AL. 2007) e la lentionina, composto solforato che oltre ad essere responsabile del caratteristico aroma del fungo (si veda oltre) si è rivelato un inibitore dell'aggregazione piastrinica (SHIMADA & AL. 2004).

Anche se coltivato ormai in tutto il mondo, *L. edodes* attualmente non è presente allo stato spontaneo in Europa e in America, ma probabilmente la sua comparsa (se non si è già verificata... alla nostra insaputa) è solo questione di tempo, come ipotizza ARORA (1986) che lo inserisce nella chiave delle specie americane. Il genere *Lentinula* ha una complessa distribuzione biogeografica e la sua tassonomia a livello specifico rimane tuttora piuttosto



***Lentinula edodes*** (Berk.) Pegler

Esemplari coltivati: particolare. Si noti la decorazione fioccosa bianca del cappello.

(Foto P. Ceccon)

controversa: le recenti analisi filogenetiche suggeriscono la presenza di almeno sette specie distinte, di cui cinque a distribuzione asiatica–australasiatica (dal limite nord rappresentato da Giappone, Corea ed estremo oriente russo, fino ad Australia, Tasmania e Nuova Zelanda a sud — passando per Cina, Thailandia, Borneo e Nuova Guinea — con un limite occidentale in India e Nepal) e due a distribuzione americana (HIBBETT & AL. 1998; HIBBETT 2001). La morfologia di *L. edodes* è caratterizzata dal portamento massiccio dei cappelli, nei quali spiccano il margine involuto e il netto contrasto fra la carne molto spessa e il sottilissimo strato di lamelle. Il gambo è ben sviluppato, legnoso, eccentrico o laterale; la presenza di velo, ben evidente negli esemplari giovani, rimane come traccia soprattutto al margine del cappello. Il colore è variabile (dipende anche dalla coltivazione) ma generalmente bruno-marrone anche scuro. Le lamelle, bianche e fittissime, hanno il filo non seghettato.

Lo shiitake è stato conosciuto per parecchi anni come *Lentinus edodes* (Berk.) Singer, nome che si trova anche negli elenchi della Legge italiana (DPR 376/95) in vigore per il commercio dei funghi freschi, secchi e conservati. In passato questa specie, in base ai caratteri macroscopici, è stata attribuita a numerosi generi; al proposito riteniamo significativo quanto scrive PACE (1975): essa viene “...collocata nel genere *Armillaria*, benché non abbia le lamelle decorrenti; nel genere *Cortinellus* e *Tricholoma*, benché non sia terricola; nel genere *Lentinus*, benché non abbia il tagliante delle lamelle dentellato; pare più al suo posto nel genere *Tricholomopsis*”. Secondo l’opinione dello specialista PEGLER (1983), che ormai è accettata in modo univoco, questo fungo si differenzia per il sistema ifale monomitico con ife generative inflatte, ed è da attribuire al genere *Lentinula*. Il nome corretto da utilizzare è pertanto *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler.



***Lentinula edodes* (Berk.) Pegler**

Fette essiccate: il prodotto secco emana solo un lieve aroma, che diviene intenso e aromatico quando il fungo viene reidratato.

(Foto N. Sitta)

Il consumo di shiitake in Italia ha registrato un netto aumento negli ultimi anni, soprattutto come conservato, mentre allo stato fresco continua a non riscuotere grande successo. Essiccato (a fette) o surgelato (cappello intero, a quarti o cubetti) oggi è uno dei componenti più utilizzati nelle confezioni di misti di funghi; sottolio o al naturale viene spesso miscelato ai *Pleurotus* (e talvolta chiamato impropriamente “cardoncello”).

*Lentinula edodes* è attualmente uno dei funghi più utilizzati al mondo nell'alimentazione umana: si pensi che nel 1997 era al secondo posto per quantitativi prodotti (1,6 milioni di tonnellate in peso fresco, pari al 25% della produzione totale di funghi coltivati), superato soltanto dagli *Agaricus* di coltivazione. In Cina viene coltivato da quasi un migliaio di anni (CHANG & MILES 1987) e la Cina rappresenta tuttora il principale produttore di shiitake, con quasi il 90% della produzione mondiale (CHANG 1999).

#### LE PRINCIPALI RICERCHE

Nel 2001, in seguito al ritrovamento di formaldeide in lotti di shiitake di provenienza cinese a livelli di circa 300 mg/kg di peso fresco da parte delle autorità francesi, il Pesticide Safety Directorate (Regno Unito) commissionò un'indagine preliminare i cui risultati fornirono valori analoghi (110–240 mg/kg di peso fresco), che furono riscontrati anche in campioni di *L. edodes* di provenienza certificata da agricoltura biologica (si veda MASON & AL. 2004). Fu allora ipotizzato che la formaldeide rinvenuta non provenisse da una contaminazione chimica dei funghi, ma fosse piuttosto da considerarsi di origine naturale. Nel frattempo, concentrazioni di 20–370 mg/kg di peso fresco venivano riportate anche da autori cinesi (LU & AL. 2002).





***Lentinula edodes*** (Berk.) Pegler

Fette essiccate: particolare. Si notino il margine involuto e le colorazioni variabili della cuticola pileica.

(Foto N. Sitta)

Uno studio successivo condotto dalla Food Standards Agency (FSA) britannica ha confermato questi risultati utilizzando metodologie analitiche differenti (LC-MS). Concentrazioni medie di formaldeide pari a 200 e 240 mg/kg di peso fresco sono state misurate in diversi campioni di shiitake freschi coltivati nel Regno Unito o in Cina, rispettivamente, che non avevano subito alcun trattamento con formaldeide dopo la raccolta, né erano stati cresciuti in ambienti disinfettati con formaldeide. Tali livelli di formaldeide sono rimasti pressoché inalterati anche dopo 10 giorni di conservazione in frigorifero a 4 °C, mentre dopo cottura in olio bollente per 6 min si è osservata una riduzione significativa della concentrazione di HCHO, anche se molto variabile da campione a campione (FSA 2004; MASON & AL. 2004). Più recentemente, concentrazioni di formaldeide dello stesso ordine di grandezza (120–500 mg/kg di peso fresco) sono state riscontrate anche in campioni essiccati di *L. edodes* cinesi (LIU & AL. 2005; PENG & AL. 2005; WENG & AL. 2009). È interessante ricordare che già dagli anni '70 la presenza di HCHO in shiitake era stata riportata da diversi gruppi di ricerca giapponesi (YADA & AL. 1970; YASUMOTO & AL. 1971c; OKADA & AL. 1972; YAMAZAKI & AL. 1980; HIRATA & AL. 1988; MATSUHISA & AL. 1988), seppur su riviste locali a scarsa diffusione internazionale e sicuramente di non facile reperimento in Occidente.

#### METODOLOGIE ANALITICHE

Il metodo utilizzato dalla FSA per la determinazione della formaldeide nei funghi shiitake prevede la digestione del campione in soluzione acquosa acida seguita da distillazione in corrente di vapore. Il distillato viene raccolto e trattato con una soluzione di acido cromotropico (sale disodico dell'acido 1,8-diidrossinaftalen-3,6-disolfonico): in presenza

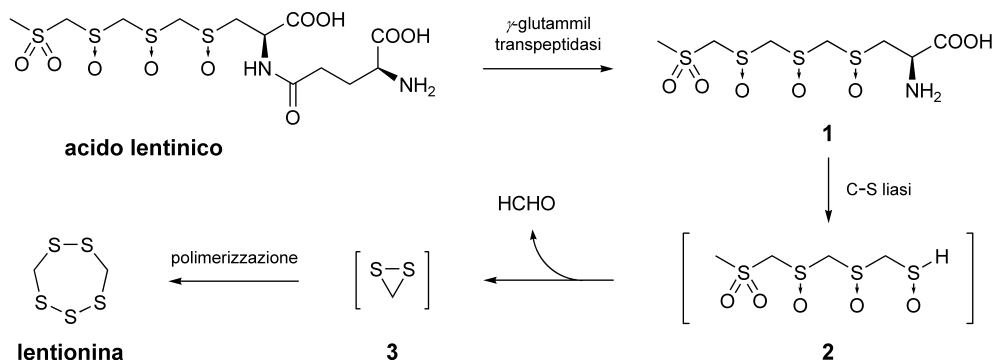
di HCHO si osserva la comparsa di una colorazione porpora, la cui intensità può essere misurata spettrofotometricamente a fini quantitativi (MASON & AL. 2004). Un metodo più specifico consiste invece nel trattamento a caldo del distillato con dimedone (5,5-dimetil-1,3-cicloesandione) e acetato di ammonio, seguito da determinazione analitica del prodotto di condensazione corrispondente mediante cromatografia liquida ad alte prestazioni su fase inversa accoppiata a spettrometria di massa con ionizzazione chimica a pressione atmosferica (*reversed-phase* HPLC–APCI-MS) (MASON & AL. 2004). Altri metodi spettrofotometrici per la determinazione della formaldeide in estratti di *L. edodes* prevedono l'utilizzo di acetilacetone (YADA & AL. 1970; LU & AL. 2002; WENG & AL. 2009), di 4-ammino-3-idrazino-5-mercapto-1,2,4-triazolo e periodato (YAMAZAKI & AL. 1980; MATSUHISA & AL. 1988) oppure di formaldeide deidrogenasi in presenza di NAD e glutazione ridotto (HIRATA & AL. 1988). Recentemente sono stati utilizzati a tal fine anche chip microfluidici a base polidimetilsilossanica (WENG & AL. 2009).

Un ulteriore metodo per la determinazione dell'HCHO in campioni di shiitake richiede invece l'estrazione con acqua per 15–18 ore a temperatura ambiente e la successiva derivatizzazione della formaldeide con 2,4-dinitrofenilidrazina al corrispondente idrazone, che viene poi analizzato mediante HPLC su fase inversa con rivelazione ultravioletta a 352 nm, previa estrazione con un opportuno solvente (LIU & AL. 2005; PENG & AL. 2005). A tal fine è stata utilizzata anche la microestrazione in fase liquida con un liquido ionico quale [C<sub>8</sub>MIM][PF<sub>6</sub>] (1-*n*-ottil-3-metilimidazolio esafluorofosfato) (LIU & AL. 2005).

#### ORIGINE DELLA FORMALDEIDE IN *L. EDODES*

Accertato dunque che la presenza di formaldeide in *L. edodes* può ragionevolmente considerarsi naturale, almeno entro certi livelli (indicativamente 100–300 mg/kg di peso fresco), si possono fare alcune ipotesi (bio)chimiche circa la sua formazione endogena nei corpi fruttiferi di questa specie.

Secondo l'ipotesi più accreditata, la formaldeide in *L. edodes* sembrerebbe essere prodotta contestualmente alla formazione della lentionina (1,2,3,5,6-pentatiepano) (Schema 1), un caratteristico composto ciclico solforato responsabile del tipico aroma dello shiitake (MORITA & KOBAYASHI 1966), insieme a numerosi altri polisolfuri ciclici e non, tra cui 1,2,4-tritriolano, 1,2,4,5-tetratriano, 1,2,4,6-tetratiepano e 1,2,3,4,5,6-esatiepano (MORITA & KOBAYASHI 1967; CHEN & HO 1986; HIRAIDE & AL. 2004, 2005; DA COSTA & ERI 2006). Esempari di *L. edodes* sia freschi che essiccati presentano soltanto un lieve odore stantio, ma quando shiitake secchi sono posti a macerare in acqua o carpofori freschi vengono tritirati si sviluppa gradualmente l'aroma caratteristico di questa specie (YASUMOTO & AL. 1971a), suggerendo in tal modo l'intervento di un processo enzimatico a partire da precursori non volatili in seguito alla rottura dei tessuti fungini. Tale precursore è stato identificato nell'acido lentinico (Schema 1), un derivato della  $\gamma$ -L-glutammiL-cisteina solfossido isolato da *L. edodes* (YASUMOTO & AL. 1971a,b) e più tardi rinvenuto anche in *Micromphale perforans* (Hoffm.: Fr.) Gray [ $\equiv$  *Gymnopus perforans* (Hoffm.: Fr.) Antonín & Noordel.] e *Collybia hariolorum* (Bull.: Fr.) Qué. [ $\equiv$  *Gymnopus hariolorum* (Bull.: Fr.) Antonín, Halling & Noordel.] (HÖFLE & AL. 1976), nonché, insieme all'acido epilentinico, in *Micromphale foetidum* (Sowerby: Fr.) Sing. [ $\equiv$  *Marasmiellus foetidus* (Sowerby: Fr.) Antonin, Halling & Noordel.], *Micromphale cauvetii* (Maire & Kühner) ex Hora e *Collybia impudica* (Fr.) Sing. [ $\equiv$  *Gymnopus impudicus* (Fr.) Antonín, Halling & Noordel.] (GMELIN & AL. 1980).



Schema 1. Formazione endogena di formaldeide (HCHO) in *Lentinula edodes* a partire dall'acido lentinico durante la biosintesi della lenthionina, composto solforato responsabile del caratteristico aroma dello shiitake.

In particolare, per azione di un opportuno enzima ( $\gamma$ -glutamyl transpeptidasi) sull'acido lentinico, il residuo  $\gamma$ -L-glutamminico viene rimosso, ottenendo l'acido desglutamillentinico (**1**) che subisce poi una  $\alpha,\beta$ -eliminazione catalizzata da un secondo enzima (cisteina-solfossido C-S liasi), generando così un acido sulfenico intermedio **2** altamente reattivo (YASUMOTO & AL. 1971a, b, 1977; KURASHIMA & AL. 1990; KUMAGAI & AL. 2002; SNEEDEN & AL. 2004). Questo si degrada spontaneamente a lenthionina e analoghi, presumibilmente attraverso la polimerizzazione di diverse unità di metilene disolfuro (**3**) intermedie, con liberazione contestuale di formaldeide quale sottoprodotto (MORITA & KOBAYASHI 1967; YASUMOTO & AL. 1971b, 1976; FUJIMOTO & AL. 1976; KURASHIMA & AL. 1990), attraverso un meccanismo tuttora da chiarire nei dettagli. In tal senso, campioni omogenizzati di *L. edodes* addizionati di entrambi gli enzimi purificati hanno mostrato una produzione doppia di HCHO rispetto al controllo (IWAMI & AL. 1974). Un meccanismo enzimatico del tutto simile a partire da un precursore dipeptidico analogo ( $\gamma$ -glutamyl-marasmina) è stato proposto per la formazione del caratteristico odore agliaceo dei carpofori di alcune specie del genere *Marasmius* quali *M. alliaceus* (Jacq.) Fr., *M. scorodionius* (Fr.) Fr. e *M. prasiomus* (Fr.) Fr. (GMELIN & AL. 1976). L'attività antibatterica e antifungina della lenthionina (MORITA & KOBAYASHI 1967) suggerisce che questi polisolfuri organici possano agire come sostanze di difesa negli sporofori fungini, dove vengono prodotti in risposta ad attacchi esterni a partire da precursori inattivi, in maniera del tutto analoga ai polisolfuri vegetali come l'allicina in numerose specie del genere *Allium* (si veda JACOB 2006; MÜNCHBERG & AL. 2008).

In *L. edodes*, tuttavia, la formaldeide potrebbe anche originarsi a partire da altri precursori naturali nelle condizioni, spesso tutt'altro che blande, di estrazione e di derivatizzazione utilizzate, e la sua concentrazione risultare così, almeno in parte, dipendente dal metodo analitico utilizzato, come osservato in diverse matrici biologiche (si veda MASON & AL. 2004). Esistono infatti molti potenziali precursori di formaldeide nei sistemi biologici, soprattutto in condizioni di idrolisi acida. Del resto in *L. edodes* gli stessi composti solforati, ciclici o aciclici, che contribuiscono al suo caratteristico aroma, possono subire a loro volta degradazione a formaldeide.

Il metodo di estrazione mediante distillazione non è tuttavia in grado di distinguere tra formaldeide libera e formaldeide derivata da idrolisi acida o enzimatica, e i valori di HCHO misurati sono quasi certamente sovrastimati rispetto alla quantità di formaldeide libera presente nei campioni, di qualunque natura essa sia (OKADA & AL. 1972; MASON & AL. 2004). Cautela è certamente necessaria nel caso in cui si vogliono valutare i risultati su campioni

di shiitake che si sospettino contaminati, deliberatamente o meno, da formaldeide di natura non endogena con la quale siano venuti a contatto durante il ciclo produttivo. È pertanto auspicabile che le tecniche analitiche siano affinate proprio in questa direzione.

#### DISCUSSIONE

Le analisi di alcuni campioni di *L. edodes*, predisposte all'interno di aziende italiane di commercializzazione di funghi, hanno fornito concentrazioni di formaldeide di 20–25 mg/kg (DE PAULIS M., com. pers.). Si tratta quindi di un contenuto di formaldeide molto inferiore ai valori riportati in letteratura per lo shiitake, che si collocano tipicamente sui 100–300 mg/kg di peso fresco, ma che possono raggiungere anche i 700 mg/kg.

In Italia la formaldeide, se rinvenuta negli alimenti, viene considerata un contaminante (anche se di origine naturale) o un additivo non consentito (conservante, E240), ad eccezione di una tipologia di formaggi. Infatti, la normativa sugli additivi (Direttiva 95/2/CE, allegato III) consente un'aggiunta di esametilentetrammina (E239) soltanto nel formaggio provolone e fissa a 25 mg/kg il livello massimo di formaldeide residua (la esametilentetrammina libera infatti HCHO che esplica azione antibatterica nei confronti di clostridi indesiderati).

Tuttavia, considerata la natura pressoché ubiquitaria della formaldeide, in passato l'Istituto Superiore di Sanità ha fornito pareri di accettabilità riguardo la presenza di HCHO in determinati alimenti, fissando un limite massimo di 50 mg/kg per i pesci della famiglia dei Gadidi e di 10 mg/kg per i molluschi, ritenendo evidentemente che tali livelli non costituiscono rischio per la salute dei consumatori. Inoltre, tenuto conto del limite di 0,9 mg/l previsto dall'Organizzazione Mondiale per la Sanità (WHO) per l'acqua potabile (WHO 2008), ha formulato un parere di accettabilità anche per la presenza di modesti quantitativi di formaldeide (0,1–0,56 mg/l) nella birra cinese.

Più recentemente, inoltre, è stato richiesto dalla Commissione Europea il parere del gruppo di esperti scientifici dell'EFSA (European Food Safety Authority) in merito all'impiego della formaldeide come conservante nella produzione e nella preparazione di additivi alimentari; nel parere, adottato il 30 novembre 2006, l'EFSA ha concluso che l'esposizione ad additivi gelificanti contenenti residui di formaldeide a livelli di 50 mg/kg di additivo non costituisce motivo di preoccupazione per la sicurezza dei consumatori (EFSA 2006). Il parere dell'EFSA è stato recepito nella Direttiva 2009/10/CE del 13 febbraio 2009, che ha fissato a 50 mg/kg il livello massimo di HCHO consentito per additivi gelificanti a base di alginato (E400–E405). La medesima Direttiva CE inoltre ha introdotto la tolleranza di 5 mg/kg di formaldeide negli additivi E407 (carragenina) ed E407a (alga *Eucheuma* trasformata). La carragenina è una gelatina di largo uso alimentare, medicinale ed industriale, ottenuta per estrazione acquosa a partire da numerose alghe appartenenti alle *Rhodophyceae* (alghe rosse). La tolleranza si è resa necessaria perché la formaldeide può essere naturalmente presente nelle alghe marine utilizzate (situazione paragonabile a quella di *Lentinula edodes*) e di conseguenza essere presente come impurezza nei prodotti finiti.

#### CONCLUSIONI

Sebbene studi di esposizione alla formaldeide per inalazione nell'uomo e in animali da laboratorio abbiano indotto l'International Agency on Research on Cancer (IARC) a classificare la formaldeide come cancerogeno per l'uomo (BfR 2006), l'Organizzazione Mondiale per la Sanità ritiene che la formaldeide non sia da considerarsi cancerogena se



assunta per via orale con la dieta a livelli giornalieri di 0,15 mg/kg di peso corporeo (WHO 2008). Livelli di riferimento analoghi sono stati fissati anche dall'Environmental Protection Agency (EPA) statunitense (si veda MASON & AL. 2004). La formaldeide infatti è rapidamente assorbita e metabolizzata nel corpo umano (RESTANI & GALLI 1991; BFR 2006; GONZALEZ & AL. 2006) ed è improbabile che i bassi livelli assunti con la dieta possano determinare effetti dannosi per la salute. Si può inoltre presumere che la formaldeide contenuta nei cibi sia legata a macromolecole quali proteine e acidi nucleici (si veda BOLT 1987; GONZALEZ & AL. 2006) e risulti pertanto inattiva una volta introdotta nell'organismo attraverso la dieta (RESTANI & GALLI 1991).

Sulla base di tali indicazioni, sin dall'agosto 2001 l'autorità federale tedesca preposta alla tutela della salute dei consumatori (BgVV = Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin), e dall'ottobre 2004 anche la Food Standards Agency britannica (FSA), hanno stabilito che il contenuto di formaldeide riscontrato nei funghi shiitake (100–300 mg/kg peso fresco) non sia da ritenersi pericoloso per la salute umana. Sarebbe in ogni caso auspicabile anche un parere scientifico dell'EFSA sul contenuto naturale di formaldeide in *Lentinula edodes*, che facesse seguito sia a quanto già espresso dall'EFSA per gli additivi ottenuti dalle alghe rosse e per gli alginati, sia alle valutazioni su *Lentinula edodes* già effettuate dal BgVV tedesco e dalla FSA britannica.

#### RINGRAZIAMENTI

Desideriamo ringraziare Micaela De Paulis per lo stimolo iniziale a intraprendere questo lavoro e per i dati forniti; un ringraziamento anche a Domenico Monteleone per il puntuale aiuto e i preziosi consigli.

#### ABSTRACT

Literature data on the occurrence of formaldehyde in shiitake mushrooms (*Lentinula edodes*), one of the most consumed fungal species worldwide, are reviewed. Apparently, formaldehyde occurs naturally in shiitake fruiting-bodies and does not arise from chemical contamination by man. In particular, formaldehyde would form endogenously as a by-product of the biosynthesis of lenthionine, a sulphur-containing volatile organic compound that is responsible for the typical flavour of shiitake mushrooms and is produced by enzymatic degradation of lentinic acid in *L. edodes* fruiting-bodies. Although formaldehyde is classified as carcinogenic by inhalation, it is not considered harmful to humans at the concentrations that are usually found in drinking water and other food items through which it is introduced into the human body. Accordingly, regulatory agencies such as the BgVV (Germany) and FSA (UK) have stated that exposure to formaldehyde at the levels found in shiitake mushrooms (100–300 mg/kg fresh weight) through consumption is unlikely to pose an appreciable risk to human health.

#### BIBLIOGRAFIA

- ADRIAN-ROMERO, M., BLUNDEN, G., CARPENTER, B.G. & TYIHAK, E. (1999) – HPLC quantification of formaldehyde, as formaldemethone, in plants and plant-like organisms. *Chromatographia* 50: 160–166.
- ARORA, D. (1986) – *Mushrooms demystified*. Berkeley, USA.
- BOLT, H.M. (1987) – Experimental toxicology of formaldehyde. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology* 113: 305–309.

- BfR (BUNDESINSTITUT FÜR RISIKOBEWERTUNG) (2006) – Assessment of the carcinogenicity of formaldehyde [CAS No. 50-00-0], Schulte, A., Bernauer, U., Madle, S., Mielke, H., Herbst, U., Richter-Reichhelm, H.-B., Appel, K.-E., Gundert-Remy, U. (Eds.). BfR-Wissenschaft 02/2006: 1–156.
- CHANG, S.-T. (1999) – World production of cultivated edible and medicinal mushrooms in 1997 with emphasis on *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. in China. *International Journal of Medicinal Mushrooms* 1: 291–300.
- CHANG, S.-T. & MILES, P.G. (1987) – Historical record of the early cultivation of *Lentinus* in China. *Mushroom Journal of the Tropics* 7: 31–37.
- CHEN, C.-C. & Ho, C.-T. (1986) – Identification of sulfurous compounds of shiitake mushroom (*Lentinus edodes* Sing.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 34: 830–833.
- DA COSTA, N.C. & ERI, S. (2006) – Identification of volatile compounds in shiitake mushrooms using modern extraction techniques. *ACS Symposium Series 926 (Modern Extraction Techniques)*: 163–175.
- EFSA (EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY) (2006) – Opinion of the Scientific Panel on food additives, flavourings, processing aids and materials in contact with food (AFC) on a request from the Commission related to the use of formaldehyde as a preservative during the manufacture and the preparation of food additives. *The EFSA Journal* 415: 1–10.
- ENMAN, J., ROVA, U. & BERGLUND, K.A. (2007) – Quantification of the bioactive compound eritadenine in selected strains of shiitake mushroom (*Lentinus edodes*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55: 1177–1180.
- FSA (FOOD STANDARDS AGENCY) (2004) – URL: <http://www.food.gov.uk/science/research/researchinfo/foodcomponentsresearch/phytoestrogensresearch/t05-t06programme/t05t06projectlist/t05027project/> (visitato l'ultima volta il 4 giugno 2009).
- FUJIMOTO, K., TSURUMI, T., WATARI, M., AKAMA, K. & KANEDA, T. (1976) – The mechanism of formaldehyde formation in Shii-ta-ke mushroom. *Mushroom Science* 9: 385–390.
- GMELIN, R., LUXA, H.-H., ROTH, K. & HÖFLE, G. (1976) – Dipeptide precursor of garlic odour in *Marasmius* species. *Phytochemistry* 15: 1717–1721.
- GMELIN, R., N'GALAMULUME-TREVES, M. & HÖFLE, G. (1980) – Epilentinssäure, ein neuer Aroma- und Geruch-Precursor in *Tricholoma* Arten. *Phytochemistry* 19: 553–557.
- GONZALEZ, C.F., PROUDFOOT, M., BROWN, G., KORNIYENKO, Y., MORI, H., SAVCHENKO, A.V. & YAKUNIN, A.F. (2006) – Molecular basis of formaldehyde detoxification – Characterization of two *S*-formylglutathione hydrolases from *Escherichia coli*, FrmB and YeiG. *Journal of Biological Chemistry* 281: 14514–14522.
- HIBBETT, D.S., HANSEN, K. & DONOGHUE, M.J. (1998) – Phylogeny and biogeography of *Lentinula* inferred from an expanded rDNA dataset. *Mycol. Res.* 102: 1041–1049.
- HIBBETT, D.S. (2001) – Shiitake mushrooms and molecular clocks: historical biogeography of *Lentinula*. *Journal of Biogeography* 28:231–241.
- HIRAIDE, M., MIYAZAKI, Y. & SHIBATA, Y. (2004) – The smell and odorous components of dried shiitake mushroom, *Lentinula edodes* I: relationship between sensory evaluation and amounts of odorous components. *Journal of Wood Science* 50: 358–364.
- HIRAIDE, M., YOKOYAMA, I. & MIYAZAKI, Y. (2005) – The smell and odorous components of dried shiitake mushroom, *Lentinula edodes* II: sensory evaluation by ordinary people. *Journal of Wood Science* 51: 628–633.
- HIRATA, K., OISHI, M., ONISHI, K. & NISHIZIMA, M. (1988) – [Food analysis by using an enzyme. I. Simple method for the determination of formaldehyde in foods (in giapponese)]. *Eisei Kagaku (Journal of Hygienic Chemistry)* 34: 555–559.
- HÖFLE, G., GMELIN, R., LUXA, H.-H., N'GALAMULUME-TREVES, M. & HATANAKA, S.-I. (1976) – Struktur der Lentinssäure: 2-( $\gamma$ -Glutamylamino)-4,6,8,10,10-pentaoxo-4,6,8,10-tetrathiaundecansäure. *Tetrahedron Letters* 17: 3129–3132.
- ISRILIDES, C., KLETSAS, D., ARAPOGLOU, D., PHILIPPOUSSIS, A., PRATSINIS, H., EBRINGEROVÁ, A., HRIBALOVÁ, V. & HARDING, S.E. (2008) – *In vitro* cytostatic and immunomodulatory properties of the medicinal mushroom *Lentinula edodes*. *Phytomedicine* 15: 512–519.
- IWAMI, K., YASUMOTO, K. & MITSUDA, H. (1974) – [Mechanism of formaldehyde formation in *Lentinus edodes* (in giapponese)]. *Eiyo to Shokuryo (Journal of the Japanese Society of Food and Nutrition)* 27: 393–397.

- JACOB, C. (2006) – A scent of therapy: pharmacological implications of natural products containing redox-active sulphur atoms. *Natural Product Reports* 23: 851–863.
- KAWAGOE, S. (1925) – The market fungi of Japan. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 10: 201–206.
- KUMAGAI, H., KONO, H., SAKURAI, H. & TOKIMOTO, K. (2002) – Comparison of C-S lyase in *Lentinus edodes* and *Allium sativum*. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry* 66: 2560–2566.
- KURASHIMA, Y., TSUDA, M. & SUGIMURA, T. (1990) – Marked formation of thiazolidine-4-carboxylic acid, an effective nitrite trapping agent in vivo, on boiling of dried shiitake mushroom (*Lentinus edodes*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 38: 1945–1949.
- LIU, J.-F., PENG, J.-F., CHI, Y.-G. & JIANG, G.-B. (2005) – Determination of formaldehyde in shiitake mushroom by ionic liquid-based liquid-phase microextraction coupled with liquid chromatography. *Talanta* 65: 705–709.
- LU, Y., LIN, K. & HOU, S. (2002) – *Chinese Journal of Health Laboratory Technology* 12: 701.
- MASON, D.J., SYKES, M.D., PANTON, S.W. & RIPPON, E.H. (2004) – Determination of naturally-occurring formaldehyde in raw and cooked Shiitake mushrooms by spectrophotometry and liquid chromatography-mass spectrometry. *Food Additives & Contaminants* 21: 1071–1082.
- MIZUNO, T. (1995) – Shiitake, *Lentinus edodes*: functional properties for medicinal and food purposes. *Food Reviews International* 11: 111–128.
- MATSUHISA, K., NAKAMURA, T. & ONO, Y. (1988) – [Determination of formaldehyde in extract of shiitake (*Lentinus edodes*) by ion-exchange resin thin-layer spectrophotometry (in giapponese)]. *Asahikawa Kogyo Koto Senmon Gakko Kenkyu Hobun (Journal of the Asahikawa National College of Technology)* 25: 225–232.
- MORITA, K. & KOBAYASHI, S. (1966) – Isolation and synthesis of lenthionine, an odorous substance of shiitake, an edible mushroom. *Tetrahedron Letters* 6: 573–577.
- MORITA, K. & KOBAYASHI, S. (1967) – Isolation, structure, and synthesis of lenthionine and its analogs. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* 15: 988–993.
- MÜNCHBERG, U., ANWAR, A., MECKLENBURG, S. & JACOB, C. (2008) – Polysulfides as biologically active ingredients of garlic. *Organic & Biomolecular Chemistry* 5: 1505–1518.
- OKADA, S., IGA, S. & ISAKA, H. (1972) – [Studies on formaldehyde observed in edible mushroom shiitake, *Lentinus edodes* (Berk.) Sing (in giapponese)]. *Eisei Kagaku (Journal of Hygenic Chemistry)* 18: 353–357.
- PACE, G. (1975) – *L'atlante dei funghi*. Mondadori, Milano.
- PEGLER, D.N. (1983) – The genus *Lentinus*. A world monograph. *Kew Bull. Add. Ser.* 10: 1–281.
- PEGLER, D.N. (2003) – Useful fungi of the world: the Shiitake, Shimeji, Enoki-take, and Nameko mushrooms. *Mycologist* 17: 3–5.
- PENG, J.-F., LIU, J.-F., LU, A.-H., TAI, C. & JIANG, G.-B. (2005) – [Determination of formaldehyde in edible shiitake mushroom by high-performance liquid chromatography (in cinese)]. *Fenxi Shiyanshi (Chinese Journal of Analysis Laboratory)* 24: 57–59.
- RESTANI, P. & GALLI, C.L. (1991) – Oral toxicity of formaldehyde and its derivatives. *Critical Reviews in Toxicology* 21: 315–328.
- SHIMADA, S., KOMAMURA, K., KUMAGAI, H. & SAKURAI, H. (2004) – Inhibitory activity of shiitake flavor against platelet aggregation. *BioFactors* 22: 177–179.
- SNEEDEN, E.Y., HARRIS, H.H., PICKERING, I.J., PRINCE, R.C., JOHNSON, S., LI, X., BLOCK, E. & GEORGE, G.N. (2004) – The sulfur chemistry of shiitake mushroom. *Journal of the American Chemical Society* 126: 458–459.
- TRÉZL, L., CSIBA, A., JUHÁSZ, S., SZENTGYÖRGYI, M., LOMBAL, G. & HULLÁN, L. (1997) – Endogenous formaldehyde level of foods and its biological significance. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung A* 205: 300–304.
- WENG, H., CHON, C.H., JIANG, H. & LI, D.-Q. (2009) – Rapid detection of formaldehyde concentration in food on a polydimethylsiloxane (PDMS) microfluidic chip. *Food Chemistry* 114: 1079–1082.
- WHO (WORLD HEALTH ORGANIZATION) (2008) – Guidelines for drinking-water quality: incorporating 1<sup>st</sup> and 2<sup>nd</sup> addenda, Vol. 1 – Recommendations. 3<sup>rd</sup> Ed. World Health Organisation, Ginevra, 377–378. [http://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/dwq/gdwq3rev/en/](http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/gdwq3rev/en/) (visitato l'ultima volta il 4 giugno 2009).
- YADA, M., IMAIDA, M. & KOBAYASHI, T. (1970) – [Formaldehyde in *Cortinellus shiitake* (in giapponese)]. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi (Journal of the Food Hygienic Society of Japan)* 11: 171–176.

- YAMAZAKI, H., OGASAWARA, Y., SAKAI, C., YOSHIKI, M., MAKINO, K., KISHI, T. & KAKIUCHI, Y. (1980) – [Formaldehyde in *Lentinus edodes* (in giapponese)]. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi* (Journal of the Food Hygienic Society of Japan) 21: 165–170.
- YASUMOTO, K., IWAMI, K. & MITSUDA, H. (1971a) – A new sulfur-containing peptide from *Lentinus edodes* acting as a precursor for lenthionine. *Agricultural and Biological Chemistry* 35: 2059–2069.
- YASUMOTO, K., IWAMI, K. & MITSUDA, H. (1971b) – Enzyme-catalyzed evolution of lenthionine from lentinic acid. *Agricultural and Biological Chemistry* 35: 2070–2080.
- YASUMOTO, K., IWAMI, K., BABA, Y. & MITSUDA, H. (1971c) – [Analysis of highly volatile compounds and determination of formaldehyde content in the shiitake mushroom (in giapponese)]. *Eiyo to Shokuryo* (Journal of the Japanese Society of Food and Nutrition) 24: 463–467.
- YASUMOTO, K., IWAMI, K. & MITSUDA, H. (1976) – Enzymic formation of Shii-ta-ke aroma from non-volatile precursor(s) – lenthionine from lentinic acid. *Mushroom Science* 9: 371–383.
- YASUMOTO, K., IWAMI, K., YONEZAWA, T. & MITSUDA, H. (1977) – Anion activation of  $\gamma$ -glutamyltransferase from fruiting bodies of *Lentinus edodes*. *Phytochemistry* 16: 1351–1354.