

Classificazione dei residui

- farmaci, fitofarmaci, inquinanti e contaminanti
- caratteristiche dell'esposizione agli agenti tossici

Perché studiare contaminanti e residui?

- Lo studio di contaminanti e residui è fondamentale per garantire la salute animale, la sicurezza alimentare e la protezione della salute pubblica. Contaminanti ambientali (come metalli pesanti, diossine, pesticidi) e residui di farmaci veterinari (come antibiotici e antiparassitari) possono accumularsi nei tessuti animali, entrando nella catena alimentare. Un'esposizione cronica o acuta a queste sostanze può causare malattie negli animali e rischi per l'uomo, come tossicità, allergie o sviluppo di resistenze microbiche.

Definizioni di residuo

D.L.vo n° 336 del 4/8/99

- Per residuo si intende ciò che rimane dei farmaci o delle sostanze attive dei presidi sanitari e le relative impurezze, in seguito alla loro somministrazione negli animali, nei prodotti destinati all'alimentazione umana e a quella degli.
- Quantità di **xenobiotico o di suoi metaboliti** che può accumularsi e/o depositarsi all'interno di cellule, tessuti od organi animali (destinati all'alimentazione umana) e risultare dannosa per la sua salute.
- Qualsiasi sostanza chimica la cui presenza nella derrata alimentare possa costituire un **rischio** per il consumatore della derrata".

- PER RESIDUO NON SI DEVE INTENDERE SOLO LA MOLECOLA “PARENTE”, MA ANCHE I PRODOTTI DI BIOTRASFORMAZIONE RISULTANTI DALL’ATTIVAZIONE DEI SISTEMI ENZIMATICI DELL’ORGANISMO

Molti metaboliti acquisiscono proprietà tossiche diverse rispetto alla molecola originaria

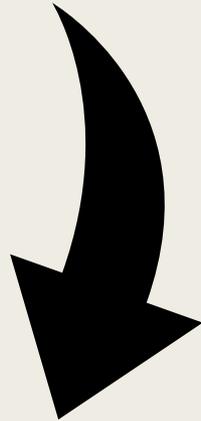
- proprietà cancerogene
- proprietà allergizzanti
- capacità di formare legami covalenti con macromolecole

*L’individuazione dei metaboliti è un passaggio obbligatorio per la registrazione di tutte le molecole soggette a venire in contatto con gli animali da reddito (farmaci, fitofarmaci, etc.).

Quantità «piccole»

- unità di grandezza corrispondente ai ppb (parti per bilione)

$\mu\text{g}/\text{kg}$ o ng/g



Il concetto di contaminante o residuo è influenzato anche dalla sensibilità raggiunta dalla moderna strumentazione analitica...

Con l'avanzamento delle tecnologie analitiche, è possibile identificare e quantificare sostanze a concentrazioni sempre più basse, influenzando così la percezione e la gestione del rischio associato a tali composti.

- La capacità di rilevare concentrazioni più basse porta le autorità regolatorie a rivedere e, se necessario, abbassare i limiti massimi di residui (LMR) per garantire una maggiore protezione della salute pubblica. **Tuttavia, è fondamentale bilanciare la sensibilità analitica con la significatività tossicologica delle concentrazioni rilevate.**

Piano Nazionale Residui

Programma italiano di sorveglianza e di monitoraggio della presenza, negli animali e negli alimenti di origine animale, di residui di sostanze chimiche che potrebbero essere dannose per la salute pubblica.

EFSA

L'Autorità europea per la sicurezza alimentare (EFSA) è l'ente comunitario di valutazione del rischio in sicurezza alimentare e dei mangimi, sanità e benessere animale istituito dal Regolamento (CE) n. 178/2002.

Ricordare

- **ADI (acceptable daily intake)** : dose giornaliera assumibile dagli individui senza che compaiano fenomeni di tossicità acuta o/e cronica (soglia di sicurezza)
- **NEDI (National estimated daily intake)**: valore di esposizione calcolato *su base nazionale* in base ai consumi
- **NOEL (No observed effect level)**: dose senza effetto osservabile
- **MRL (maximum residue level)**: quantità massima di residuo che può essere presente alla raccolta
- MRL è da 100 a 1000 volte più basso della tossicità osservata sperimentalmente
- **Tempo di latenza**: intervallo di tempo che intercorre dall'ultimo trattamento e il raggiungimento di concentrazione al di sotto dei MRL

Classificazione dei residui = come arrivano agli alimenti?

1. Residui pervenuti

conseguenza della
**contaminazione degli
animali** per cause dirette
od indirette

❖ Involontari
(accidentali)



pervengono all'animale
accidentalmente:
-contaminanti ambientali
-sostanze ad azione medicamentosa

❖ Volontari



pervengono all'animale in seguito a
trattamenti effettuati:
-a scopo terapeutico
-a scopo fraudolento
(Fitofarmaci e farmaci autorizzati e
non)

2. Residui di sostanze naturali

❖ Micotossine, tossine animali ecc.

3. Residui secondari: aggiunti o neoformati

- Pesticidi
- additivi
- sostanze chimiche
- detergenti/disinfettanti
- IPA

❖ **Durante le fasi
di produzione
degli alimenti**

sostanze che volontariamente
vengono **aggiunte agli alimenti** per
migliorarne qualità, conservabilità e
sanità

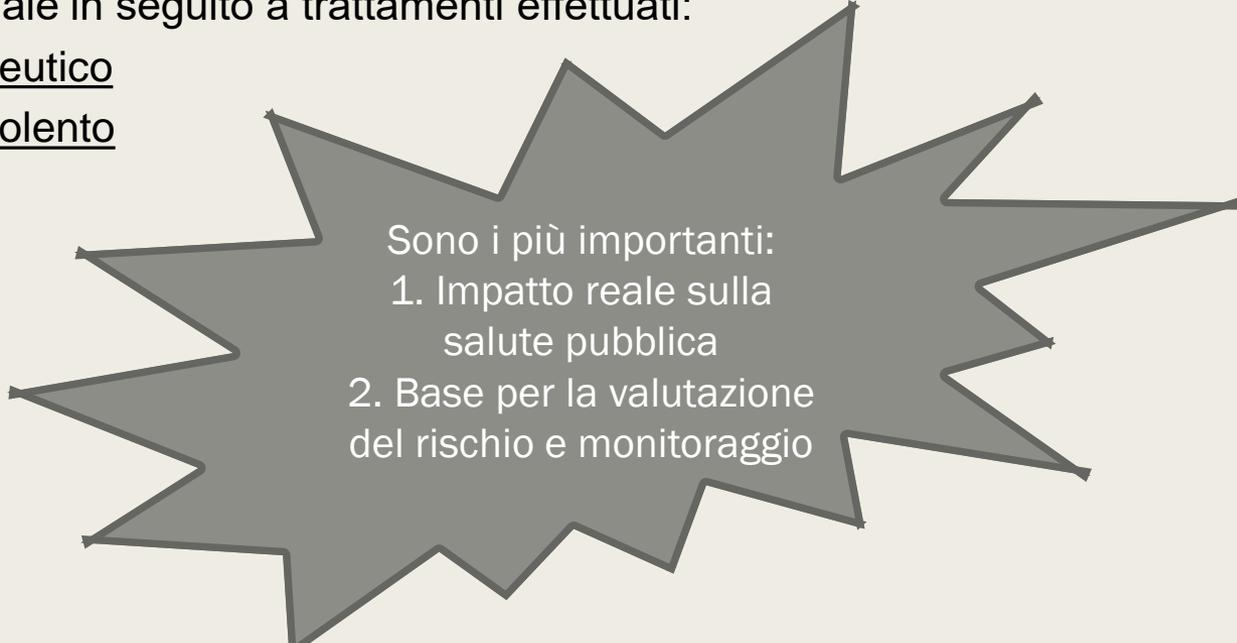
sostanze che **si formano** in alcuni
prodotti alimentari a seguito di
trattamenti di natura fisica (calore,
radiazioni) o chimica (impiego di
additivi)

Residui pervenuti: volontari (autorizzati e non)

- conseguenza della contaminazione degli animali per cause dirette od indirette (volontari o involontari)

pervengono all'animale in seguito a trattamenti effettuati:

- a scopo terapeutico
- a scopo fraudolento



Sono i più importanti:
1. Impatto reale sulla salute pubblica
2. Base per la valutazione del rischio e monitoraggio

■ FARMACI VETERINARI e FITOFARMACI

Farmaci veterinari

Impiego massivo di molecole ad azione farmacologica

- ❖ per la cura
- ❖ per la profilassi

di varie forme morbose infettive od infestive che potrebbero compromettere la produttività degli animali da reddito



impiego auxinico

per azione positiva sull'indice di conversione e sull'incremento ponderale

Decreto Legislativo 6 aprile 2006, n. 193

"Attuazione della direttiva 2004/28/CE recante codice comunitario dei medicinali veterinari"

pubblicato nella *Gazzetta Ufficiale* n. 121 del 26 maggio 2006 -
Supplemento Ordinario n. 127

■ *Ai fini del presente decreto, si intende per:*

a) Medicinale veterinario:

*1) ogni sostanza o associazione di sostanze presentata come avente **proprietà curative e profilattiche** delle malattie animali;*

2) ogni sostanza o associazione di sostanze che può essere usata sull'animale o somministrata all'animale allo scopo di ripristinare, correggere o modificare funzioni fisiologiche mediante un'azione farmacologica, immunologica o metabolica, oppure di stabilire una diagnosi medica; ...

Fitofarmaci

sostanze chimiche, naturali o di sintesi, utilizzate per combattere i parassiti delle colture agrarie

- proteggere i vegetali dagli organismi nocivi o a prevenirne gli effetti;
- favorire o regolare i processi vitali dei vegetali, con esclusione dei fertilizzanti;
- conservare i prodotti vegetali (con esclusione dei conservanti);
- eliminare le piante indesiderate;
- eliminare parti di vegetali, inibire o evitare un loro indesiderato accrescimento.

oppure

trovano impiego nella lotta contro i vettori di malattie o contro gli insetti domestici (circa il 20% della produzione dei pesticidi viene utilizzato per questo scopo)

Prodotti fitosanitari

antiparassitari

diserbanti

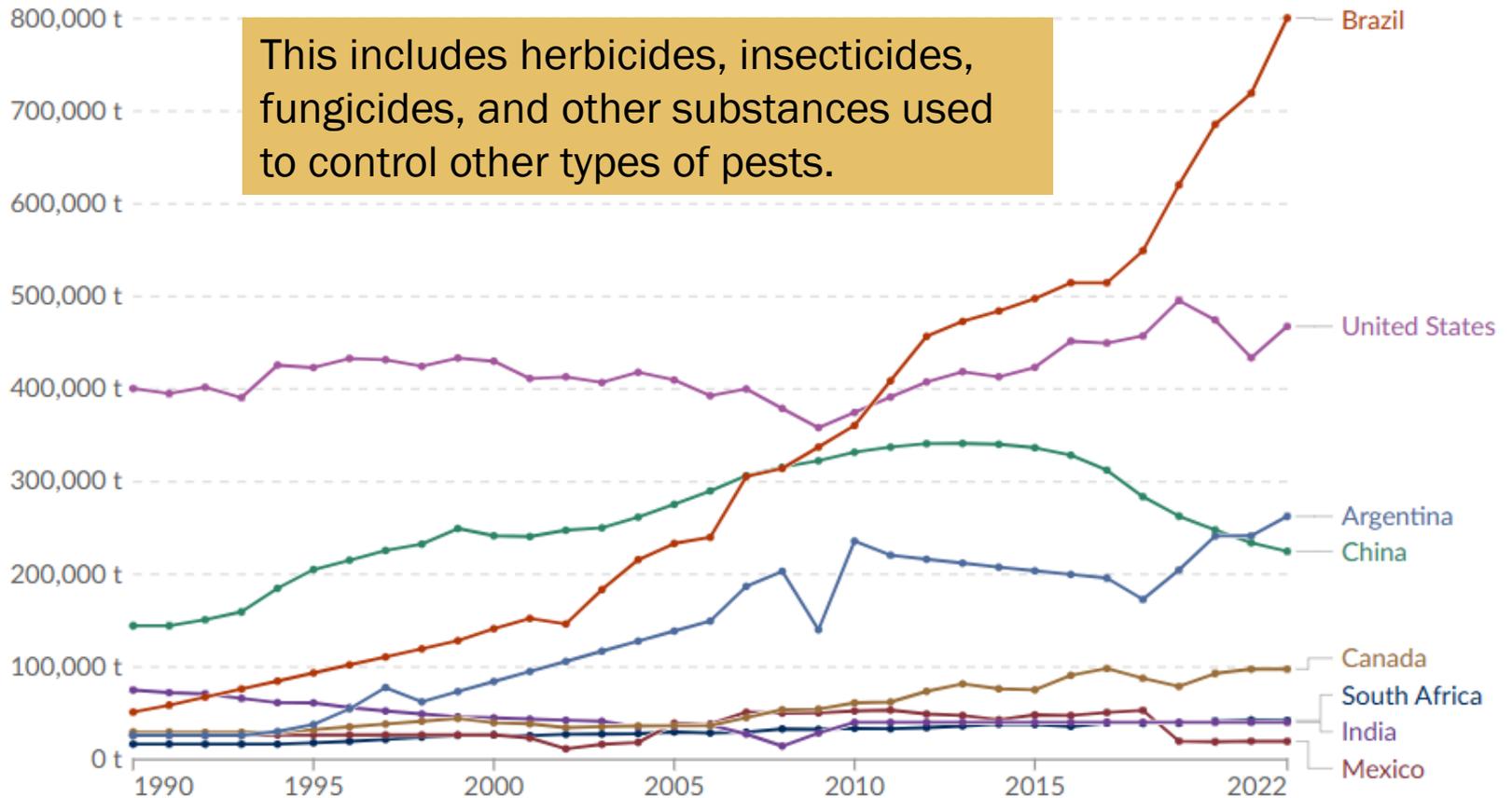
Fitoregolatori
(fitormoni)

Pesticide use, 1990 to 2022

Total pesticide use measured in tonnes of pesticide consumption per year.

Table | Map | Chart

Edit countries and regions

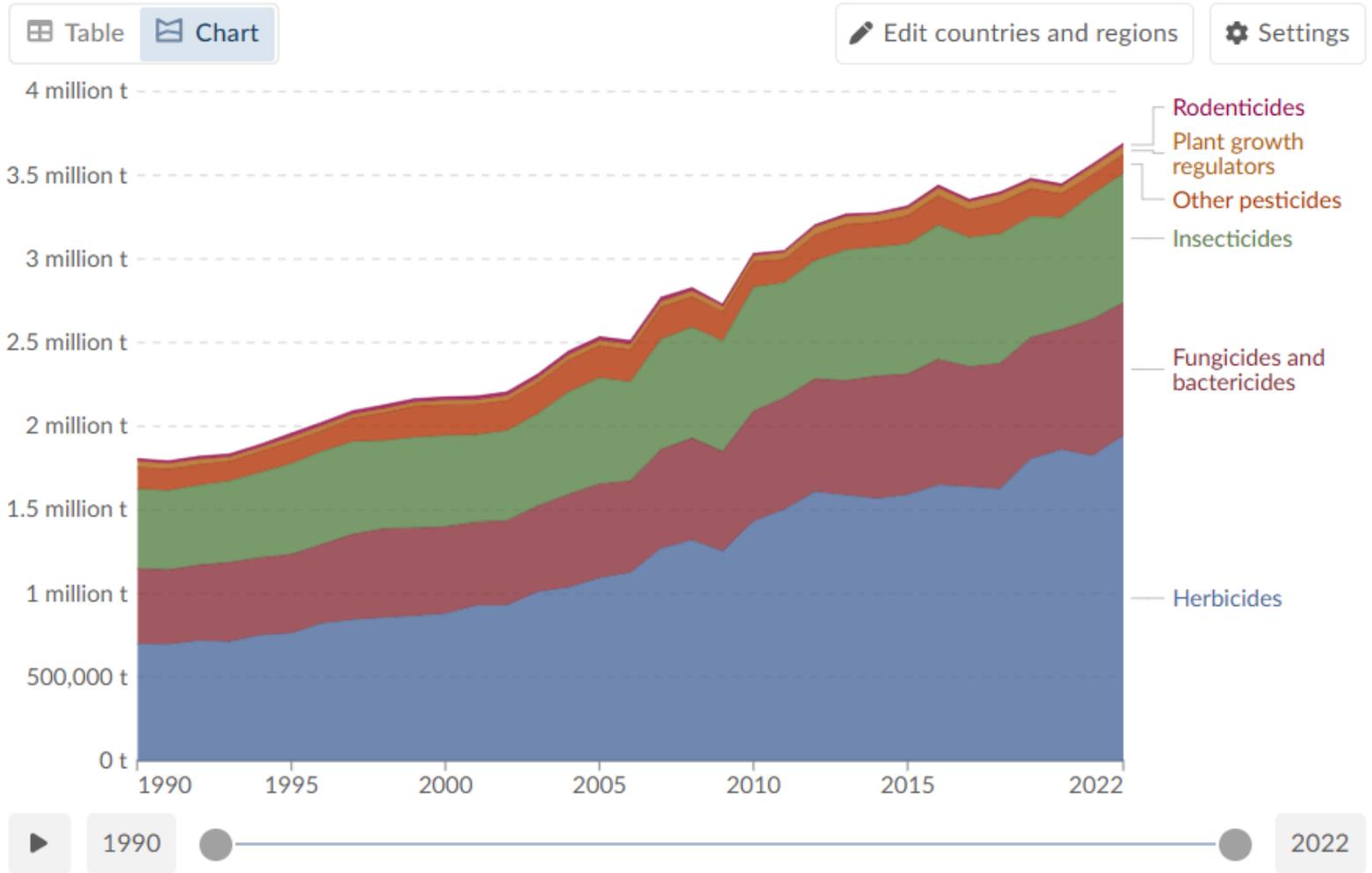


Data source: Food and Agriculture Organization of the United Nations (2024) - [Learn more about this data](#)
OurWorldinData.org/pesticides | CC BY



Pesticide breakdown by type, World, 1990 to 2022

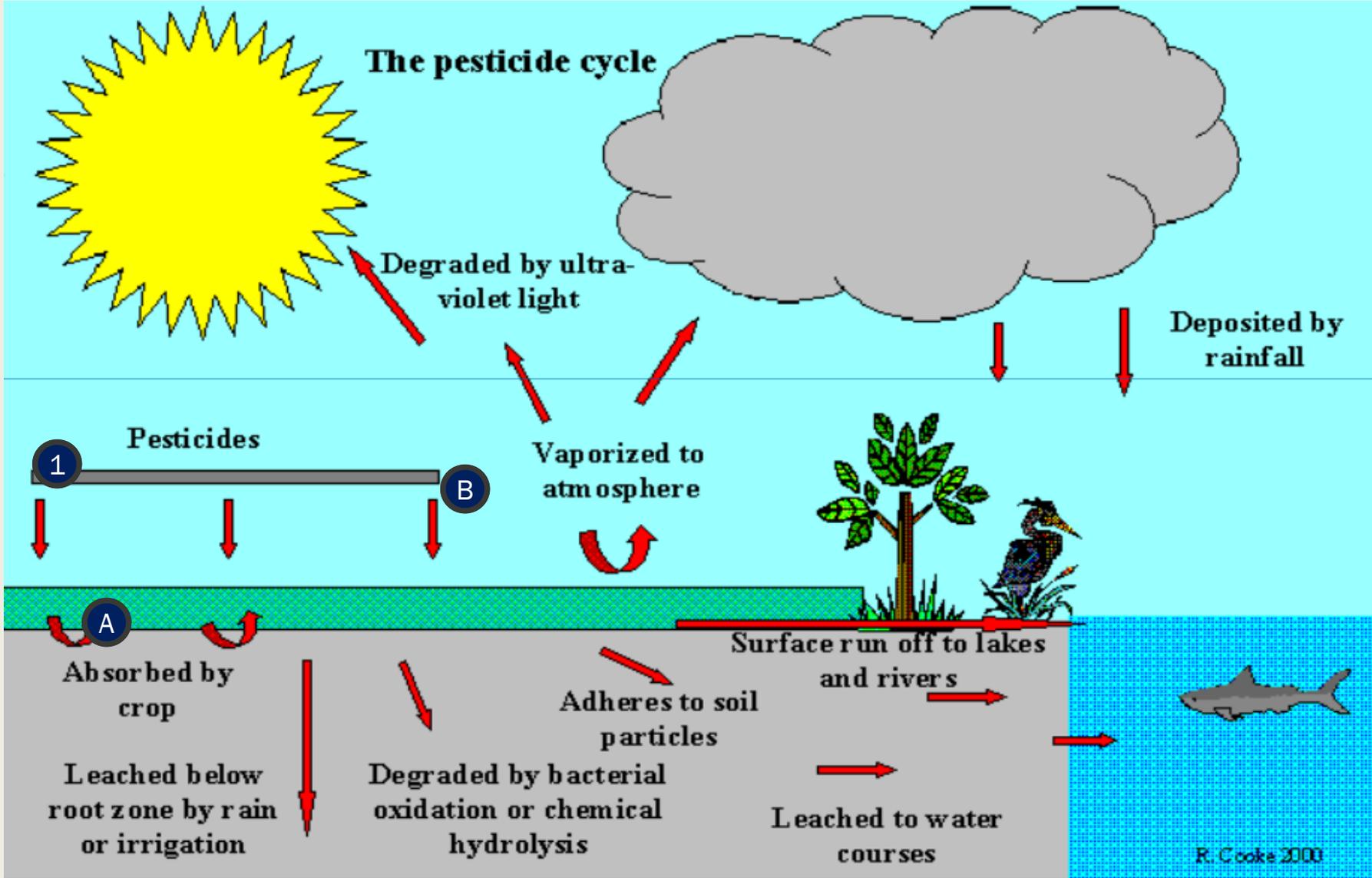
Pesticide use, broken down by product type, measured in tonnes of active ingredient.



Data source: Food and Agriculture Organization of the United Nations (2024) - [Learn more about this data](#)
OurWorldinData.org/pesticides | CC BY

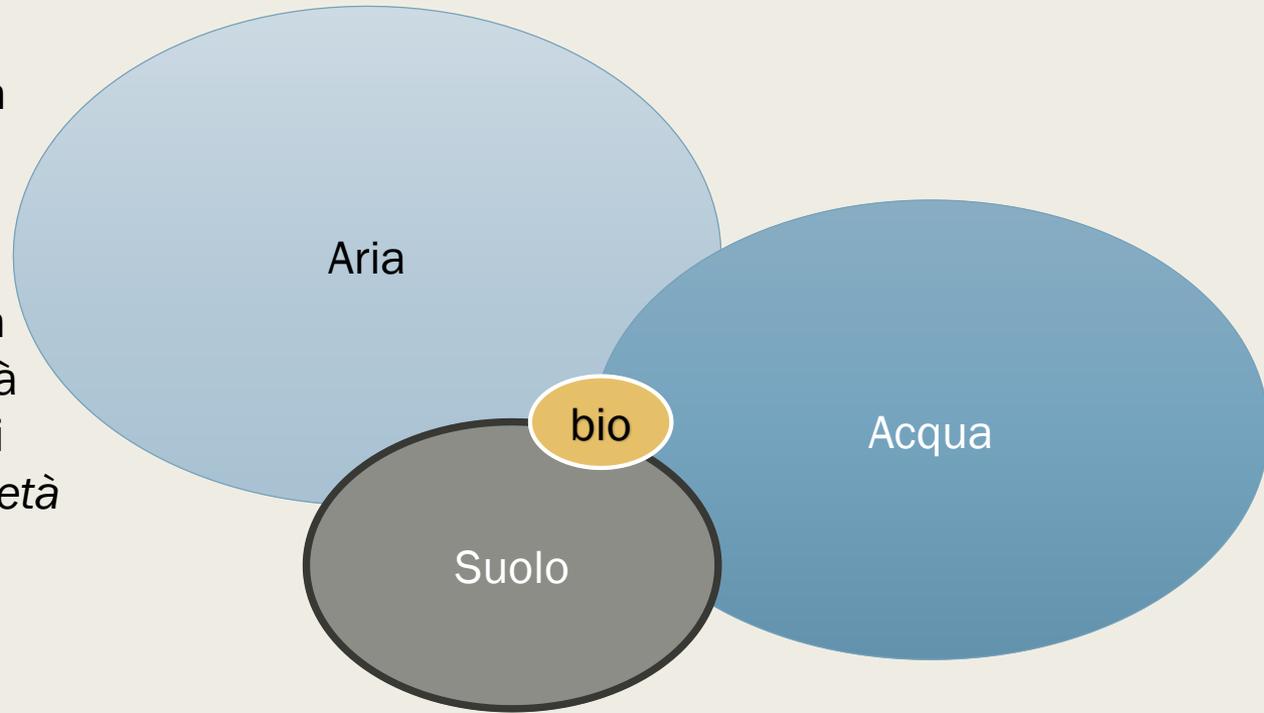
Download Share Full Screen

The pesticide cycle



Matrici ambientali

Le molecole introdotte in ambiente tenderanno a muoversi dal punto di immissione verso il comparto di accumulo in relazione alla loro affinità con le matrici ambientali *determinata dalle proprietà chimico-fisiche delle molecole disperse.*



Uno dei maggiori determinanti il destino ambientale è il coefficiente di ripartizione (K)

- Coefficiente di ripartizione ottanolo/acqua (K_{ow})- caratteristiche idrofobiche
- Coefficiente di ripartizione carbonio organico/acqua (K_{oc})- affinità col suolo/sedimenti
- Coefficiente di ripartizione aria/acqua (K_{aw})- solubilità in aria

Classificazione

In base al bersaglio contro il quale sono impiegati

- Insetticidi
- acaricidi (contro gli acari)
- nematocidi (contro vermi)
- rodenticidi (contro i roditori)
- molluschicidi (contro le lumache)
- anticrittogamici o fungicidi (contro funghi)
- erbicidi o diserbanti.

Proprietà COMUNE:

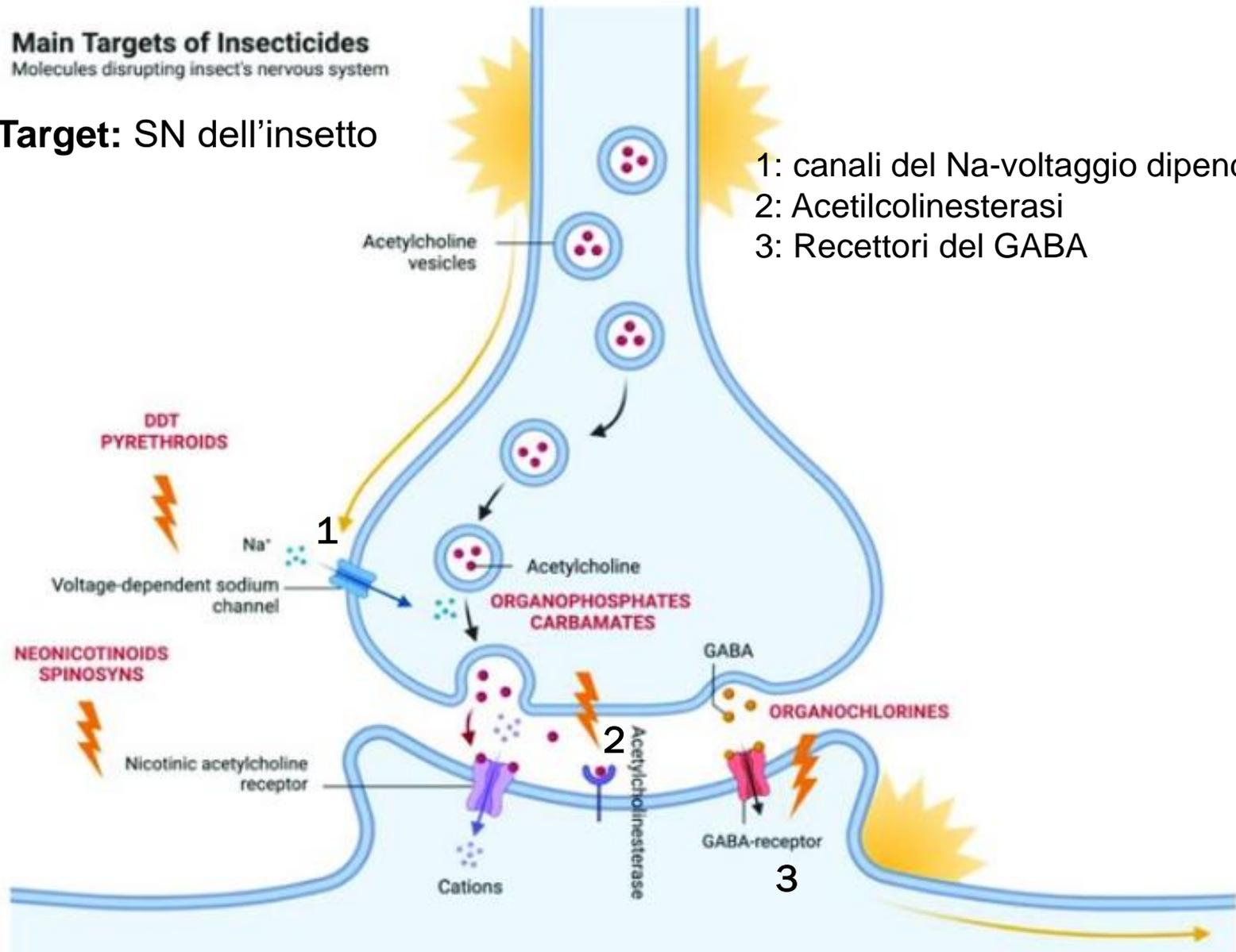
bloccare un processo metabolico vitale per gli organismi su cui risultano tossici.

Main Targets of Insecticides

Molecules disrupting insect's nervous system

Target: SN dell'insetto

- 1: canali del Na-voltaggio dipendenti
- 2: Acetilcolinesterasi
- 3: Recettori del GABA



La suddivisione dei pesticidi in base alla struttura chimica conduce alle seguenti classi:

- a) Pesticidi organo alogenati: idrocarburi alogenati alifatici, idrocarburi alogenati aromatici, idrocarburi alogenati aliciclici
- b) Pesticidi organo fosforati: derivati dell'acido fosforico, tiofosforico, tiolfosforico e ditiofosforico.
- c) Pesticidi azotati: composti con gruppo ammidico $-NH-CO$ (ammidi e derivati, carbammati e tiolcarbammati, triazine, acilaniline, uree, uracili), dinitroaniline, derivati tiocianici, cianuri.

Classificazione chimica dei pesticidi

INSETTICIDI

- inorganici, a base di arsenio o cianuro
- organofosforici, (Parathion, Malathion, ecc...)
- organoclorurati, (DDT, lindano, aldrin, dieldrin, ecc...)
- carbammati, (Carbaryl, Aldicarb, Baygon)
- oli minerali
- idrocarburi alogenati, (Bromuro di metile, Dicloroetano, ecc...)
- insetticidi di origine vegetale, (Nicotina, Piretro, Rotenone)
- altri, (Solfuro di carbonio, ecc...)

MOLLUSCHICIDI

- inorganici, (Solfato di rame)
- organici, (metaldeide, pentaclorofenolo...)

• RODENTICIDI

- inorganici, (Solfato di Tallio, Fosfuro di Zinco)
- cumarinici, (Warfarin)
- vegetali, (Solfato di stricnina, derivati della Scilla)

• ACARICIDI

- solfonati ed esteri solfonici
- clorurati organici

ERBICIDI

- inorganici, (Arseniti, Clorato di sodio)
- derivati degli acidi carbossilici e fenossicarbossilici, (Dalapon)
- carbammati e tiocarbammati
- derivati dell'Urea, (Linuron)
- diazine, triazine e triazoli. (atrazina...)
- dipiridilici, (Diquat, Paraquat)
- nitro e cloro-fenoli, (Pentaclorofenolo...)
- derivati nitrilici, (Diclobenil)
- ammine (Trifluralin)
- **FUNGICIDI**
- inorganici, (derivati dello Zolfo e del Rame)
- composti del Mercurio
- carbammati e ditiocarbammati (Ziram...)
- clorobenzoli, (Esaclorobenzene...)
- altri (Dodina...)

Insetticidi

...quanto persistono nell'ambiente????

categoria	Durata attività	Tipo di composti
Non persistenti	1 – 12 settimane	organofosforici
Moderatamente persistenti	1 – 18 mesi	Carbammati
Persistenti	2 – 5 anni	Organoclorurati
Permanenti	Degradano a residuo permanente	Contenenti Hg, Pb, As

OrganoClorurati

> interferiscono con la trasmissione assonica dell'impulso

1. Derivati fenil-alchilici (DDT e suoi analoghi)

2. Ciclopentadienici (Ciclodieni e derivati)

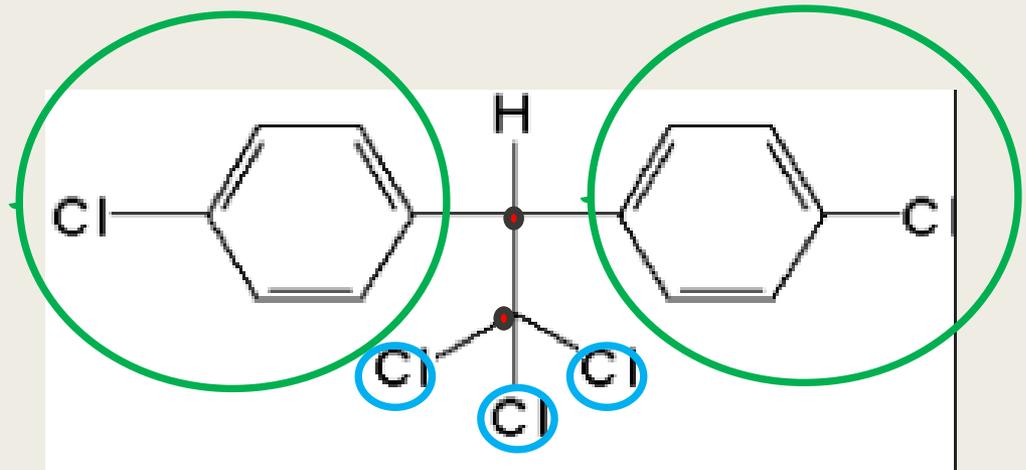
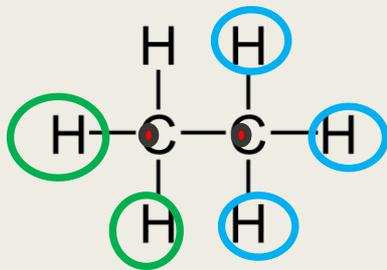
3. Derivati cicloparaffinici (Idrocarburi clorurati e derivati)

DDT(Diclorodifeniltricloroetano)	Aldrin	Alfa-HCH
Dicofof	Dieldrin	Gamma-HCH o Lindano
1, 1dicloro 2, 2 bis (4etifenil)etano (Perthane)	Clordano	Clordecane
1, 1-bis(4-clorofenil)2nitropropano (Prelan)	Endrin	Mirex
1, 1-bis(4-clorofenil)2 nitrobutano (Bulan)	Eptacloro	
Clorfenetol	Eptacloro	
Clorobenzilato	Eptacloro epossido	
Cloropropilato	Eptacloro epossido	
Bromopropilato	Endosulfan	
Metossicloro		
TDE		

DDT $C_{14}H_9Cl_5$

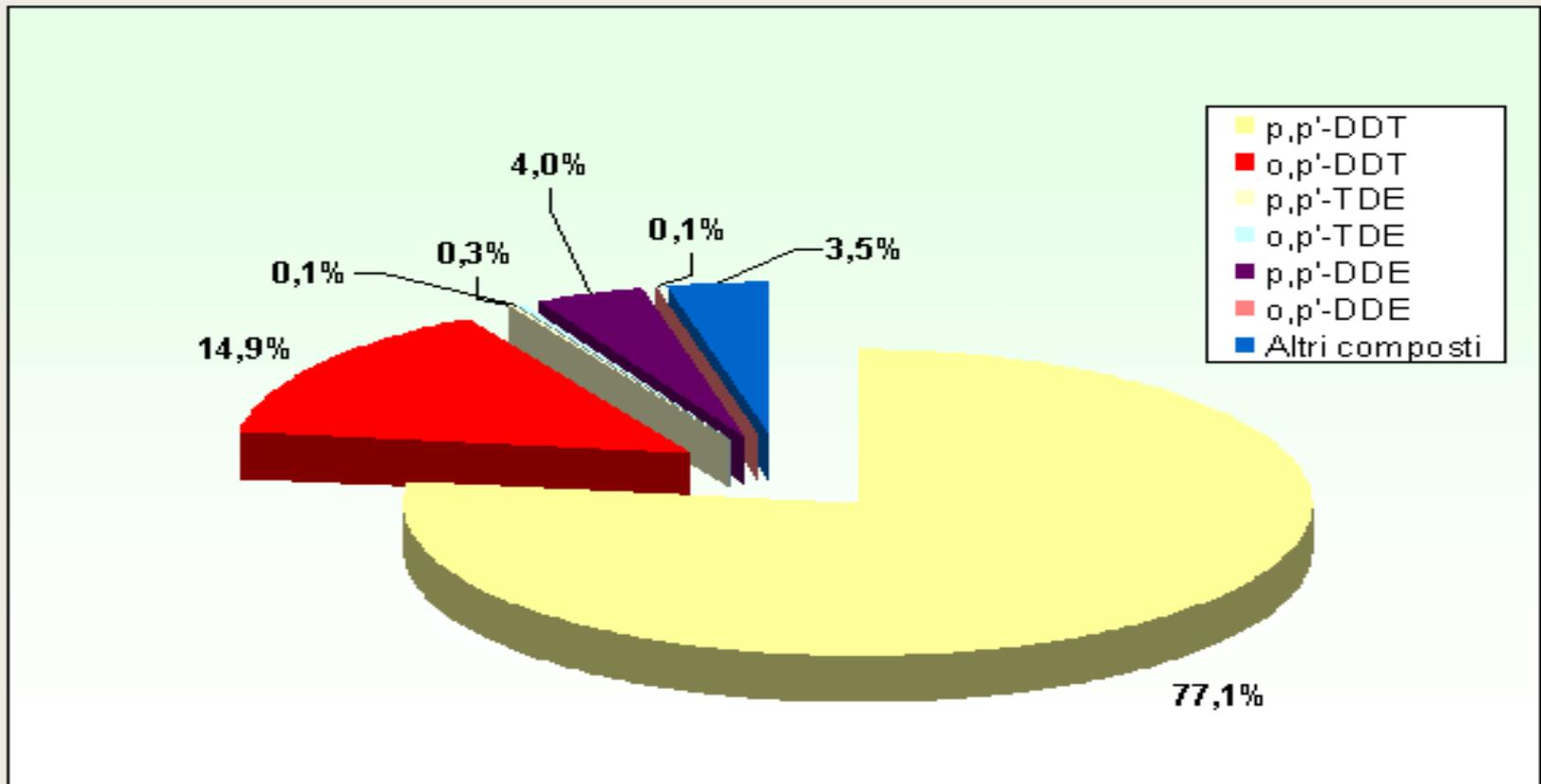


Il primo insetticida organico di sintesi immesso nel mercato fu il **DDT** (dicloro difenil tricloroetano) nel 1939



Il DDT si presenta come un solido cristallino bianco, privo di gusto ed odore. Alla combustione, forma fumi tossici e corrosivi comprendenti acido cloridrico. Reagisce con basi organiche e inorganiche, alluminio, ferro. La sua persistenza nell'ambiente è dovuta alla sua **bassa tensione di vapore** ed alla conseguente lenta evaporazione, alla sua **limitata reattività** nei confronti della luce e di sostanze chimiche presenti nell'ambiente ed alla sua **bassissima solubilità** in acqua.

- Sintetizzato nel 1873, l'uso come insetticida in campo agricolo è iniziato intorno agli anni '40-'50
- Usato nella lotta **contro alcuni vettori** soprattutto nei paesi in via di sviluppo (lotta alla malaria)
- Uso vietato nel 1970, in Italia bandito definitivamente nel 1978 in agricoltura



CARATTERISTICHE CHIMICHE E FISICHE DEL DDT

**Solido cristallino, bianco, di cattivo gusto, quasi inodore,
Punto di fusione elevato (108-109 °C)**

Bassa P di vapore

Bassa costante di solubilità (meno di 1 mg/ml)

Kow = 6,91

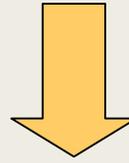
Koc = 4,67

Kaw = 102

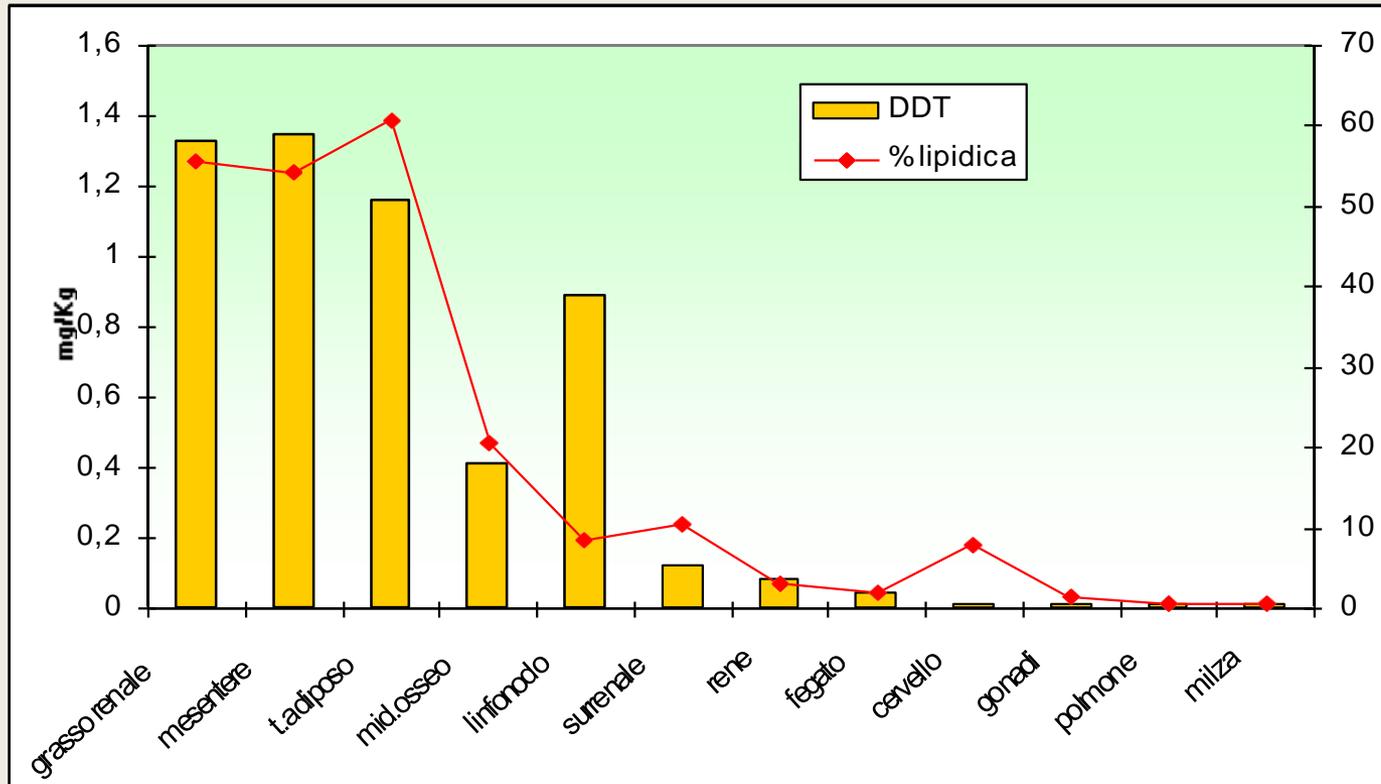
Elevata persistenza ambientale: 5 – 10 anni

- ❖ È praticamente insolubile in acqua ma solubile in molti solventi organici, grassi e oli. ...*quindi anche nei grassi animali*

Distribuzione

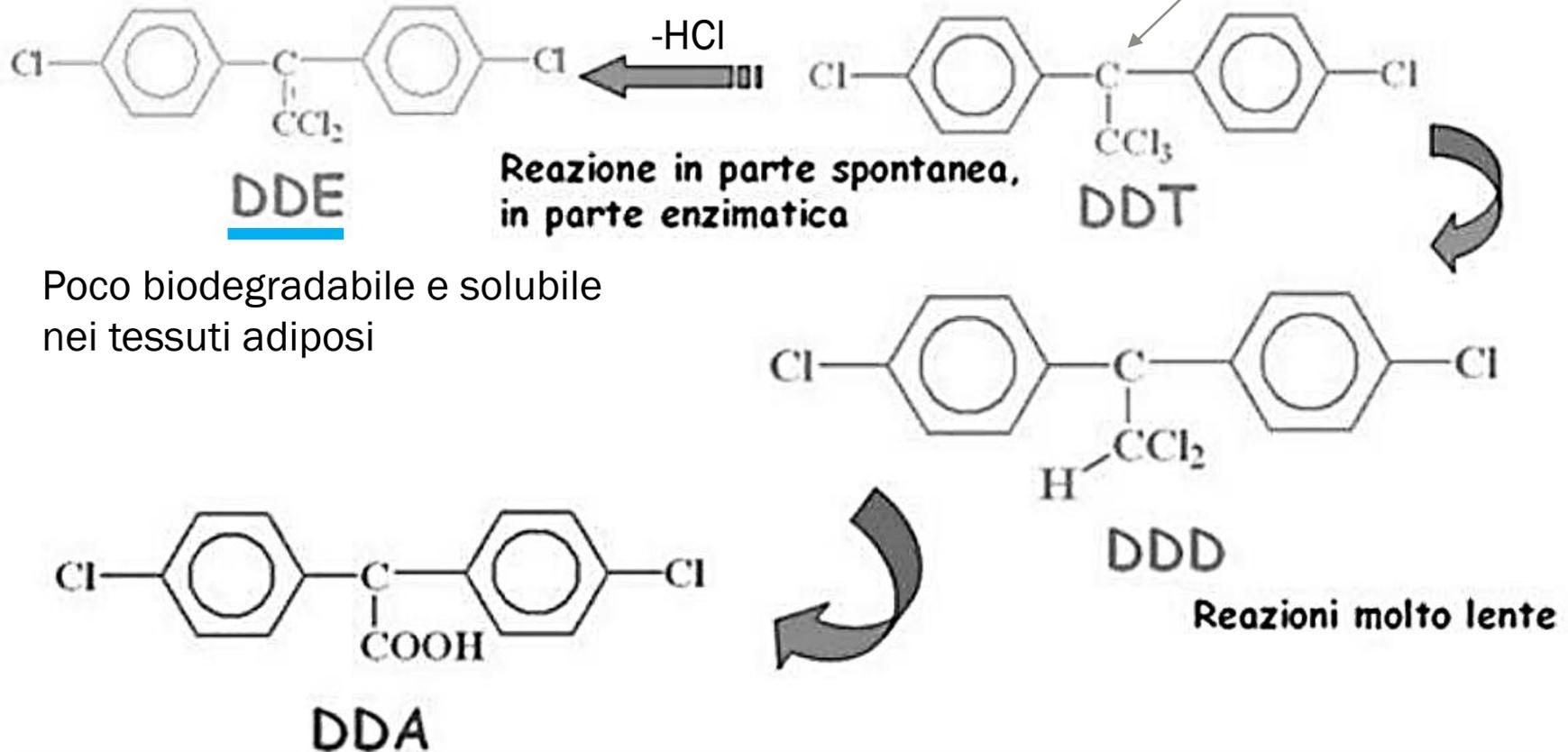


Nel sangue gli organoclorurati si legano alla frazione lipoproteica del siero, a livello ematico si ha il raggiungimento del plateau (situazione di equilibrio dinamico) e distribuzione nei tessuti



Metabolismo del DDT

Via
respiratoria,
digestiva,
transcutanea



Il metabolismo risente delle differenze inter-specifiche

Riduzione velocità di ripolarizzazione

↓ inattivazione canali del Na +

↓ permeabilità a K +

↓ Na + / K + ATPasi

↓ calmodulina



Ipereccitabilità neuronale parestesie,
tremori, convulsioni

Meccanismi d'azione secondari

- Inibizione dell' adenosintrifosfato (ATP)
- Inibizione della calmodulina e dell'AMPc -negli uccelli
fragilità dei gusci (metabolita del DDT, **DDE**)
- Attivazione del recettore Ahr
- Attivazione dei recettori per gli estrogeni e gli androgeni.
p,p'-DDT, *p,p'*DDD e *o,p'*-DDT hanno **un'attività estrogenica**; *p,p'*-DDE è un **antiandrogeno (interferenti endocrini)**
- Inibizione della sintesi degli ormoni steroidei nelle surrenali

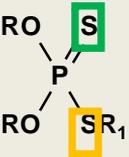
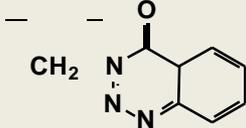
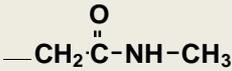
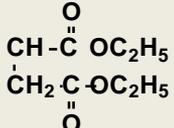
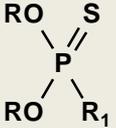
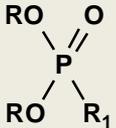
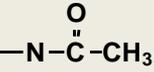


Il DDE interferisce con un enzima degli uccelli che regola la distribuzione di calcio, per cui, essi depongono uova con un guscio estremamente fragile e quindi impossibili da covare

Fosfororganici

Esteri fosforici > inibitori diretti dell'acetilcolinesterasi

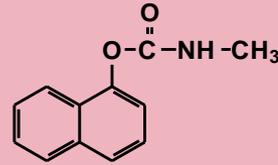
		R	R ₁	
Fosfati		CH ₃	-CH=CCl ₂	Dichlorvos
Tionofosfati		CH ₃		Chlorpyrifos
		CH ₃		Fenitrothion
		CH ₃		Fenthion
		CH ₃		Parathion Capostipite (1947)

	R	R ₁		
Ditifosfati		CH ₃		Azinphos Methyl
		CH ₃		Dimethoate
		CH ₃		Malathion
Fosfonati		CH ₃		Triclorfon
Fosforoamidati		CH ₃		Acephate
		CH ₃	NH ₂	Methamidophos

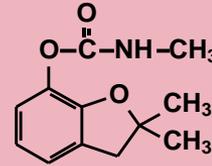
Carbammati

inibitori diretti dell'acetilcolinesterasi
(Meno tossici dei fosfororganici)

N-methylcarbamate



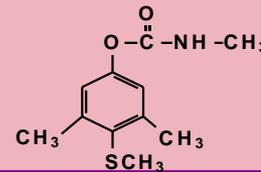
Carbaryl



Carbofuran

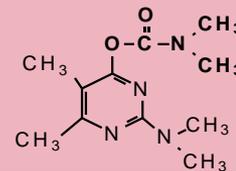


Ethiofencarb



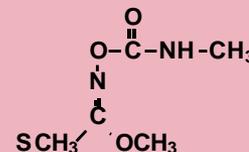
Methiocarb

N,N-Dimethylcarbamate



Pirimicarb

Oxime-carbamate

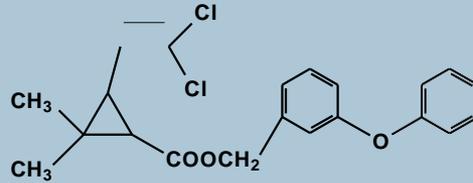


Methomyl

Piretroidi

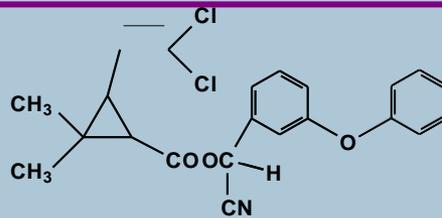
Azione neurotossica per depolarizzazione membrana neuronale > iperproduzione di acetilcolina > interferenza sulla trasmissione dell'impulso nervoso > paralisi letale.

Con alcool 3-fenossibenzenico

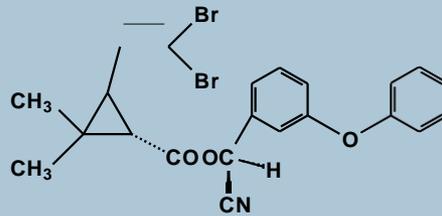


Permethrin

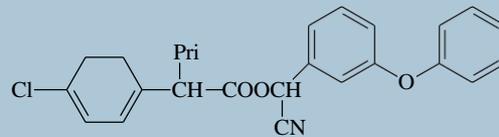
Con alcool α-ciano 3-fenossibenzenico



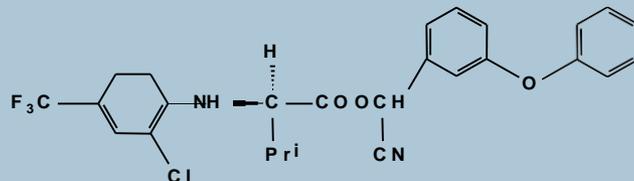
Cypermethrin



Deltamethrin



Fenvalerate



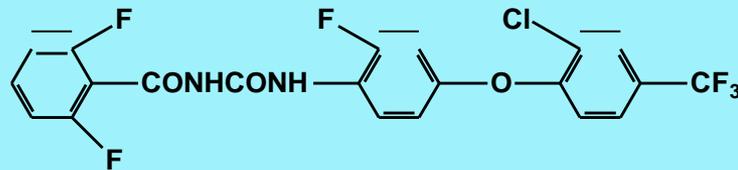
Tau-fluvalinate

Benzoiluree

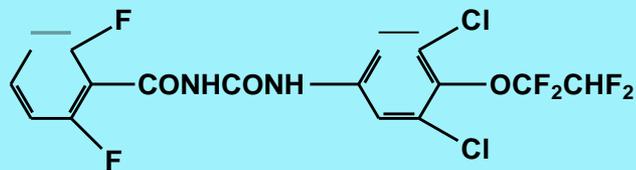
Inibitori della biosintesi della chitina



Diflubenzuron



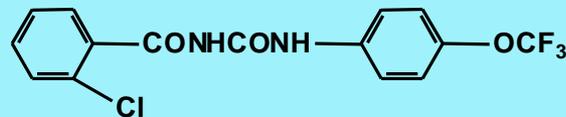
Flufenoxuron



Hexaflumuron

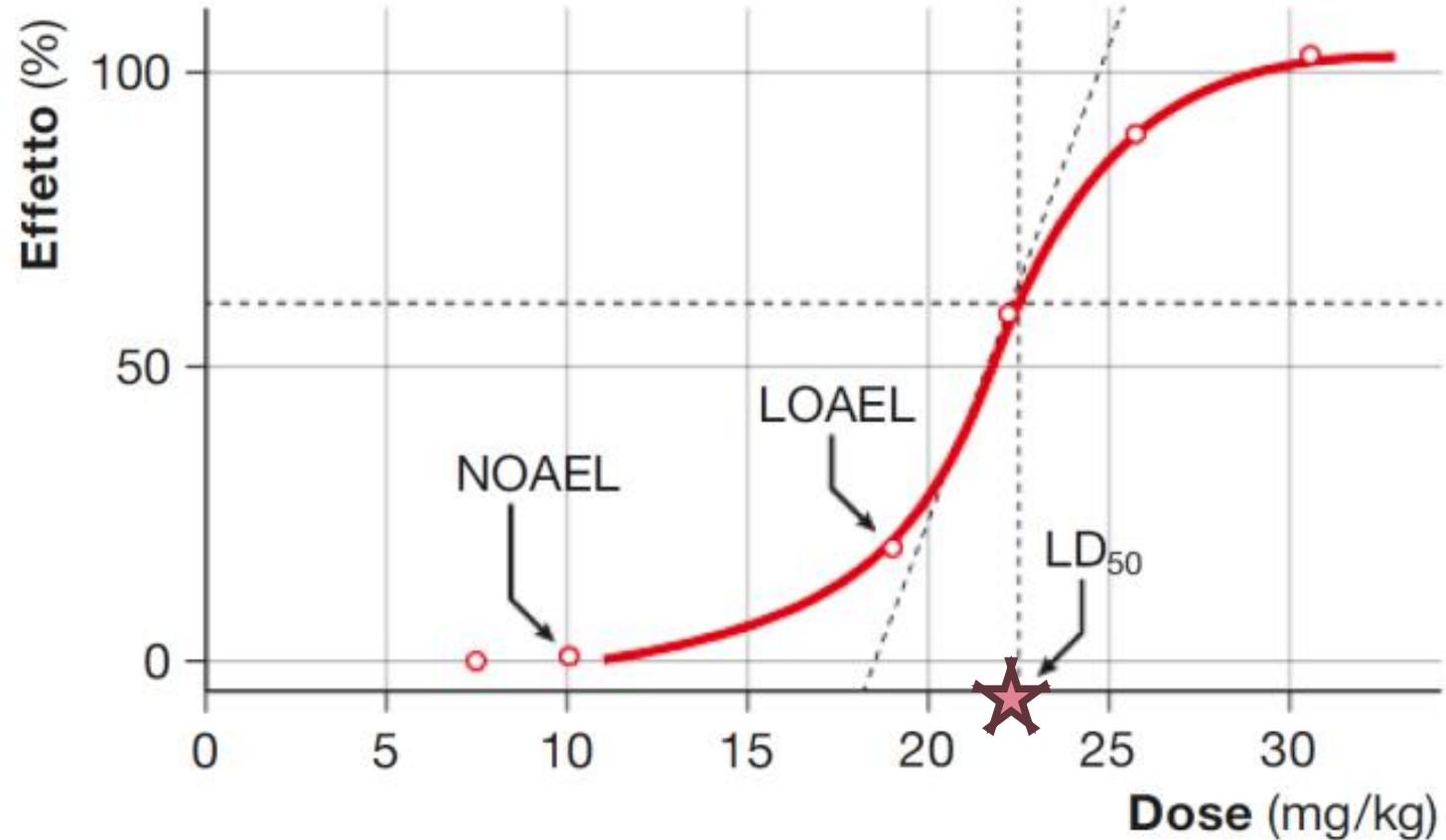


Teflubenzuron



Triflumuron

Parametri tossicologici per la valutazione del rischio



NOAEL (No Observable Adverse Effects Level): dose più elevata di una sostanza che può essere somministrata senza che si apprezzino evidenti effetti negativi/avversi.

LOAEL (Low Observable Adverse Effects Level): livello più basso di esposizione cui si registrano effetti avversi.

LD50 (lethal dose): dose della sostanza in grado di uccidere il 50% degli animali a cui è stata somministrata. È la dose singola che si può prevedere provochi la morte del 50% degli animali trattati. Non è un valore costante (dipende dalla specie, dal ceppo, dal sesso e dall'età); può essere considerato un termine statistico che descrive la risposta (in termini di letalità) ad un composto in una particolare popolazione e in specifiche condizioni sperimentali.

ADI (acceptable daily intake) : dose giornaliera assumibile dagli individui senza che compaiano fenomeni di tossicità acuta o/e cronica (soglia di sicurezza).

NOEL (No Observed Effect Level), la più alta concentrazione di una sostanza alla quale non si osservano effetti.

Classificazione di tossicità secondo l'OMS

Classe		LD ₅₀ su ratto (mg/kg p.c.)			
		orale		dermale	
		solidi	liquidi	solidi	liquidi
Molto tossico	Ia	≤ 5	≤ 20	≤ 10	≤ 40
	Ib	5-50	20-200	10-100	40-400
Moderatamente tossico	II	50-500	200-2000	100-1000	400-4000
Poco tossico	III	≥ 501	≥ 2001	≥ 1001	≥ 4001

Tossicologia degli Insetticidi (1/5)

CLASSE	LD ₅₀ (mg/kg ratto)	NOEL (mg/kg ratto)	ADI (mg/kg p.c.)	Classe Tossicità (OMS)
Clororganici				
Aldrin	38-67		0.0001*	
<u>DDT</u>	113-118	1	0.02	II
Dicofol	578	5	0.002	III
Dieldrin	37-87		0.0001*	
Endosulfan	70	15	0.006	II
Endrin	10-40		0.0002	
γ-HCH (Lindane)	88-270	25	0.008	II

* somma di aldrin + dieldrin

Tossicologia degli Insetticidi (2/5)

	LD₅₀ (mg/kg ratto)	NOEL (mg/kg ratto)	ADI (mg/kg p.c.)	Classe Tossicità (OMS)
Fosfororganici				
Azinphos methyl	9	5	0.005	Ib
Chlorpyrifos	135-163	-	0.01	II
Dimethoate	387	5	0.002	II
Fenitrothion	250	10	0.005	II
Fenthion	250	<5	0.007	II
Malathion	1375-2800	100	0.02	III
Methamidophos	20	2	0.004	Ib
Parathion	2	2	0.004	Ia
Quinalphos	1750	3	-	II
Tetrachlorvinphos	4000-5000	125	-	III

Tossicologia degli Insetticidi (3/5)

	LD₅₀ (mg/kg ratto)	NOEL (mg/kg ratto)	ADI (mg/kg p.c.)	Classe Tossicità (OMS)
Carbammati				
Carbaryl	850	200	0.01	II
Carbofuran	8	20	0.002	Ib
Ethiofencarb	200	330	0.1	II
Methiocarb	20	67	0.001	II
Pirimicarb	147	250	0.02	II
Propoxur	50	200	0.02	II

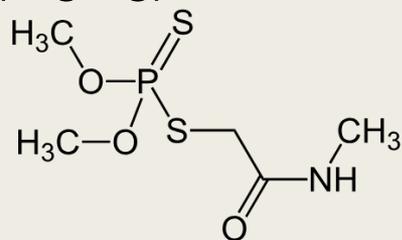
Tossicologia degli Insetticidi (4/5)

	LD₅₀ (mg/kg ratto)	NOEL (mg/kg ratto)	ADI (mg/kg p.c.)	Classe Tossicità (OMS)
Piretroidi interferiscono con la trasmissione assonica dell'impulso				
Cypermethrin	250-4150	7.5	0.05	II
Deltamethrin	135->5000	1	0.01	II
Fenvalerate	451	250	0.02	II
Tau-fluvalinate	261	1	0.01	II
Permethrin	430-4000	100	0.05	II

Tossicologia degli Insetticidi (5/5)

	LD₅₀ (mg/kg ratto)	NOEL (mg/kg ratto)	ADI (mg/kg p.c.)	Classe Tossicità (OMS)
Benzoiluree				
diflubenzuron	>4640	40	0.02	III
flufenoxuron	>3000	50	-	III
hexaflumuron	>5000	75	-	III
teflubenzuron	>5000	8	0.01	III
triflumuron	>5000	20	0.007	III

Residui (mg/kg) di **Dimethoate** su diversi frutti dopo il trattamento



Insetticida fosfororganico

Giorni dal trattamento	Albicocca	Arancia	Oliva	Pesca	Susina	Uva
0	1,51	0,41	1,60	0,97	1,08	1,13
7	0,79	0,22	1,08	0,31	0,05	0,21
14	0,45	0,17	0,17	0,22	n.d.	0,26
21	0,22	0,17	-	0,12	-	0,28
28	0,13	-	-	-	-	0,28
35	0,12	-	-	-	-	-

Ditiocarbammati (fungicidi)

- suddivisi in 3 famiglie: **DMD, EBD e PBD**.

Gruppo metilico (DMD - Dimethyldithiocarbamate) che include tiram, ziram, metam.

Gruppo etilico (EBD - Ethylenebisdithiocarbamate) che include maneb, zineb, mancozeb.

Gruppo propilico (PBD - Propylenebisdithiocarbamate) che include il propineb.

- **EBDC** (etilenbisditiocarbammati) (maneb, mancozeb)

- Tra i prodotti di degradazione è presente l'etilen tiourea (ETU)

- prodotto potenzialmente cancerogeno si forma

- durante le normali condizioni di stoccaggio, soprattutto per azione dell'umidità

- Questo prodotto è presente anche nel formulato come impurezza

- Per limitarne la presenza come residuo negli alimenti è stato posto un limite massimo dello 0.5% nel principio attivo tecnico al momento della commercializzazione.

- **dialchil ditiocarbammati** (thiram, ziram)

Questi composti non sono sistemici e agiscono per contatto fogliare

Tossicologia dei fungicidi (1/3)

CLASSE	LD₅₀ (mg/kg ratto)	NOEL (mg/kg ratto)	ADI (mg/kg p.c.)	Classe Tossicità (OMS)
---------------	--	-------------------------------	-----------------------------	---------------------------------------

ditiocarbamati

Maneb	> 5000	250	0.03	III
Mancozeb	> 5000	-	0.03	III
Thiram	2600	1.5	0.01	III
Zineb	> 5200	-	0.03	III
ziram	320	-	0.02	III

benzimidazoli

Benomyl	> 5000	> 2500	0.1	III
Carbendazim	> 15000	-	0.03	III
Thiabendazole	3600	40	0.1	III
Thiophanate methyl				

Tossicologia dei fungicidi (2/3)

	LD₅₀ (mg/kg ratto)	NOEL (mg/kg ratto)	ADI (mg/kg p.c.)	Classe Tossicità (OMS)
dicarbossimidi				
Chlozolinate	> 5000	200	-	III
Iprodione	> 2000	150	0.06	III
Procymidone	6800	1000	0.1	III
Vinclozolin	> 15000	1.4	0.01	III
triazoli				
Bitertanol	> 5000	100	0.01	III
Cyproconazole	1020	1	-	II
Hexaconazole	2189	2.5	0.005	III
Propiconazole	1517	3.6	0.02	II
Tebuconazole				

Tossicologia dei fungicidi (3/3)

	LD₅₀ (mg/kg ratto)	NOEL (mg/kg ratto)	ADI (mg/kg p.c.)	Classe Tossicità (OMS)
anilinopirimidine				
Cyprodinil	> 2000	3	0.03	III
Mepanipyrim	> 5000	2.45	0.024	III
pyrimethanil	> 4150	20	0.2	III
strobilurine				
Azoxystrobin	> 5000	18	0.2	III
Kresoxin-methyl	> 5000	800	0.4	-

Limite Massimo del Residuo (MRL) di **Folpet** in differenti Nazioni



fungicida impiegato in vite
contro la peronospora,
muffa grigia e oidio

Paese	MRL (mg/kg)					
	<i>mela</i>	<i>cocomero</i>	<i>uva</i>	<i>lattuga</i>	<i>fragola</i>	<i>pomodoro</i>
Brasile	10	2	15	15	20	-
Cile	25	-	25	-	25	25
Grecia	-	3	3	2	3	3
Israele	10	0.5	-	-	-	-
Italia	3	0.1	3	2	0.1	3
USA	25	15	25	50	25	25

è tossico per gli organismi acquatici e per i lieviti *Saccharomyces* (i residui di Folpet nell'uva ostacolano la fermentazione). È sospetto cancerogeno nell'uomo.

- = Non Registrato

Erbicidi

- Sono quei fitofarmaci che vengono impiegati nella lotta **contro le cosiddette erbe infestanti o malerbe.**
- Il concetto di erba infestante è riferito esclusivamente al danno che una specie vegetale può arrecare ad un'altra che rappresenta oggetto di coltura agraria.
- Una stessa pianta, di norma soggetta a coltivazione, può pertanto diventare infestante quando cresce in altre colture o in luoghi in cui la sua presenza è indesiderabile per l'uomo.
- I danni provocati dalle infestanti alle colture derivano dai processi di competizione per le risorse idriche, alimentari e dei fattori abiotici vitali (ad es. "competizione riguardo alla luce solare")

Erbicidi: distruggere o inibire lo sviluppo di piante indesiderate

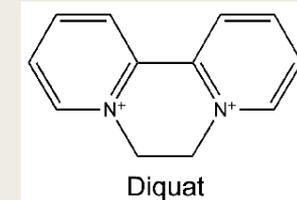
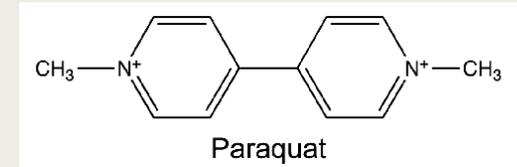
Fenossiderivati

- Hanno dato l'avvio alla moderna pratica del diserbo chimico
- Chimicamente sono molto simili alle **auxine**, ormoni che nella pianta regolano processi fisiologici alla base dell'accrescimento
- Sostituendosi alle auxine interferiscono sulla crescita
- Sono erbicidi **selettivi**, **sistemici**
- Si applicano alle foglie in post-emergenza

Sono utilizzati a dosi molto basse (0.1 %)

- agiscono come regolatori di crescita delle piante, mimando l'azione delle auxine, ormoni vegetali naturali. Questo porta a una crescita incontrollata e anormale che alla fine causa la morte delle erbe infestanti. La selettività di questi erbicidi si basa sulla diversa sensibilità tra le piante coltivate e le erbe infestanti.

Dipiridilici

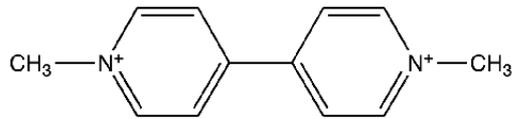


- **Diquat e paraquat**
- Chimicamente dei sali quaternari d'ammonio
- Non sono selettivi
- Agiscono rapidamente per contatto sulle parti verdi della pianta, ma non sulle parti legnose
- Inibisce la fotosintesi clorofilliana
- Vengono **adsorbiti irreversibilmente** dai colloidi del terreno

Non sono biologicamente attivi

- I composti dipiridilici agiscono come sostanze redox che, riducendosi e ossidandosi alternativamente, interferiscono con la fotosintesi generando, come prodotto intermedio perossido di idrogeno che danneggia le parti verdi della pianta.

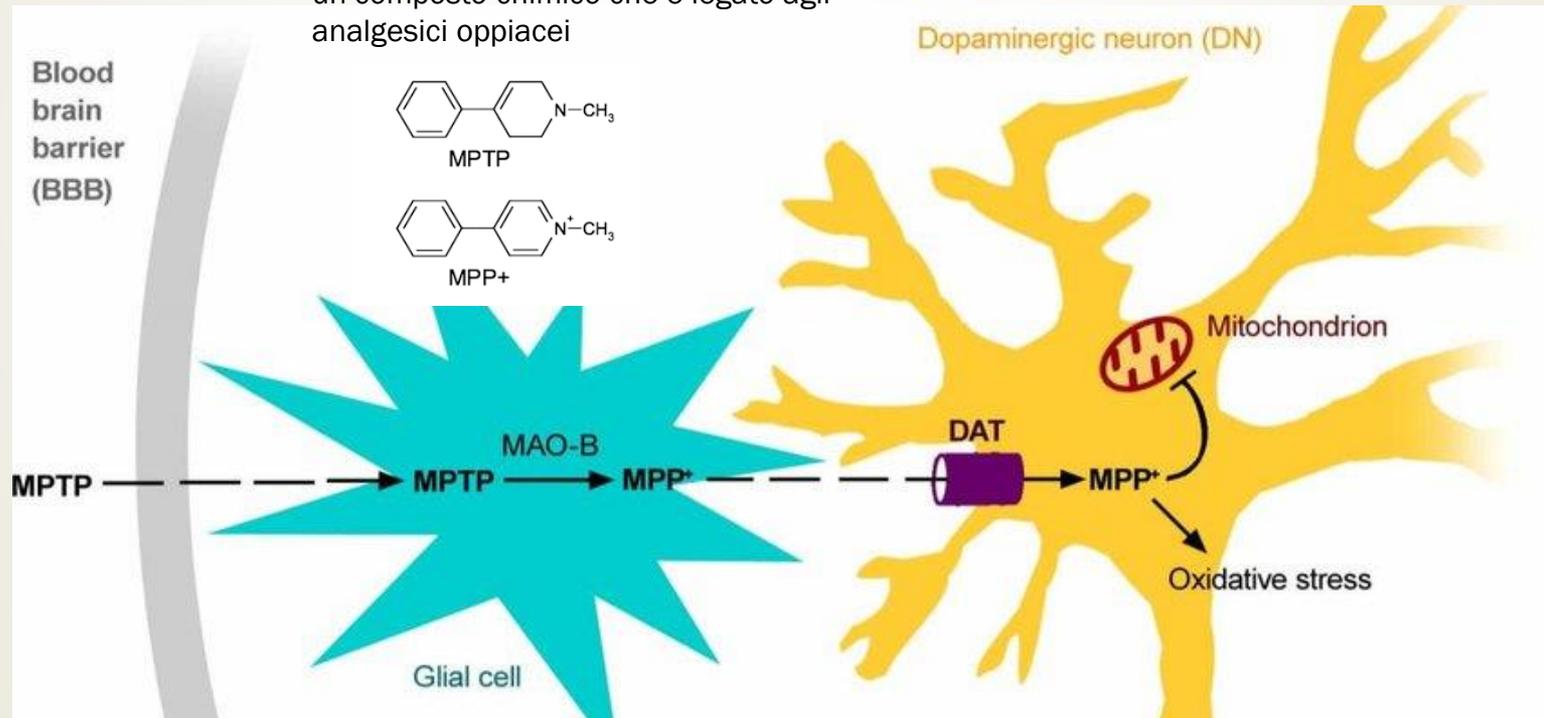
Paraquat e morbo di Parkinson



Paraquat

Il paraquat è un erbicida strutturalmente simile al MPP⁺ e, come lui, genera stress ossidativo. Sebbene non agisca esattamente nello stesso modo, può anch'esso causare danni ai neuroni dopaminergici nei modelli animali. Numerosi studi epidemiologici hanno osservato un aumento del rischio di Parkinson in persone esposte al paraquat, soprattutto agricoltori o residenti in aree rurali.

un composto chimico che è legato agli analgesici oppiacei



Il metabolita dell'MPTP MPP⁺ provoca a livello della *substantia nigra*, degenerazione dei neuroni dopaminergici simile a quella riscontrata nel Morbo di Parkinson.

Uree

- Questi erbicidi vengono assorbiti principalmente attraverso l'apparato radicale
- Sono erbicidi selettivi usati in **pre-emergenza**
- Sono erbicidi sistemici selettivi
- Agiscono come inibitori della fotosintesi

Secondo gli standard moderni questi composti sono usati a dosi elevate (0.4-4 kg/ha).

Triazine

- Simazina
- Questi composti sono inibitori fotosintetici che sono assorbiti dalle foglie e dalle radici
- Sono dotati di una grande **stabilità chimica** e quindi molto persistenti nell'ambiente
- Risultano selettive per un limitato numero di colture (mais, sorgo, bietola, etc)

Tra i composti più noti l'**atrazina**, per i problemi legati all'inquinamento delle falde acquifere

Aminoacidi derivati

- Questa classe di composti hanno la quota di mercato più alta col 19.9%
- Classificati anche come organofosforici
 - Glifosato: è uno degli erbicidi più utilizzati al mondo caratterizzato da elevata sistemicità (una volta assorbito dalla foglia, è in grado di devitalizzare anche altri organi della pianta) ed ampio spettro d'azione
 - Agisce inibendo la sintesi degli aminoacidi aromatici
 - E' commercializzato anche in forma di sali

Tossicologia (1/3)

CLASSE	LD₅₀ (mg/kg ratto)	NOEL (mg/kg ratto)	ADI (mg/kg p.c.)	Classe Tossicità (OMS)
fenossiderivati				
2,4 D	639-764	5	0.3	II
MCPA	900-1160	20	-	III
dipiridilici				
Diquat	231	0.25	0.002	II
Paraquat	157	170	0.004	II
dinitroaniline				
Dinitramine	3000	>2000	-	III
Pendimethanil	1250	>100	-	III
Trifluralin	> 5000	813	0.024	III

Tossicologia (2/3)

CLASSE	LD₅₀ (mg/kg ratto)	NOEL (mg/kg ratto)	ADI (mg/kg p.c.)	Classe Tossicità (OMS)
---------------	--	-------------------------------------	-----------------------------------	---

ammidi

Alachlor	930-1350	2.5	-	III
Diphenamid	1050	>2000	-	III
Isoxaben	>10 000	5.6	0.056	III
Metolachlor	580	-	-	II
Propanil	> 2500	400	0.005	III

uree

Chlorotoluron	> 5000	100	-	III
Diuron	3400	250	0.002	III
Linuron	1500-4000	-	0.008	III

Tossicologia (3/3)

CLASSE	LD₅₀ (mg/kg ratto)	NOEL (mg/kg ratto)	ADI (mg/kg p.c.)	Classe Tossicità (OMS)
---------------	--	-------------------------------	-----------------------------	---------------------------------------

triazine

Atrazine	1869-3090	10	0.005	III
Simazine	> 5000	0.5	0.005	III
Terbuthylazine	1590-2000	0.22	0.002	III

solfoniluree

Chlorsulfuron	5545	100	0.05	III
Rimsulfuron	> 5000	300	-	III
Triasulfuron	> 5000	32.1	0.012	III

amminoacidi derivati

Glyphosate	5600	> 410	1.75	III
Glufosinate NH₄	2000	2	0.02	III

Residui pervenuti (non volontari)

pervengono all'animale accidentalmente

Distinti in:

- contaminanti ambientali
- sostanze ad azione medicamentosa

Alcune definizioni

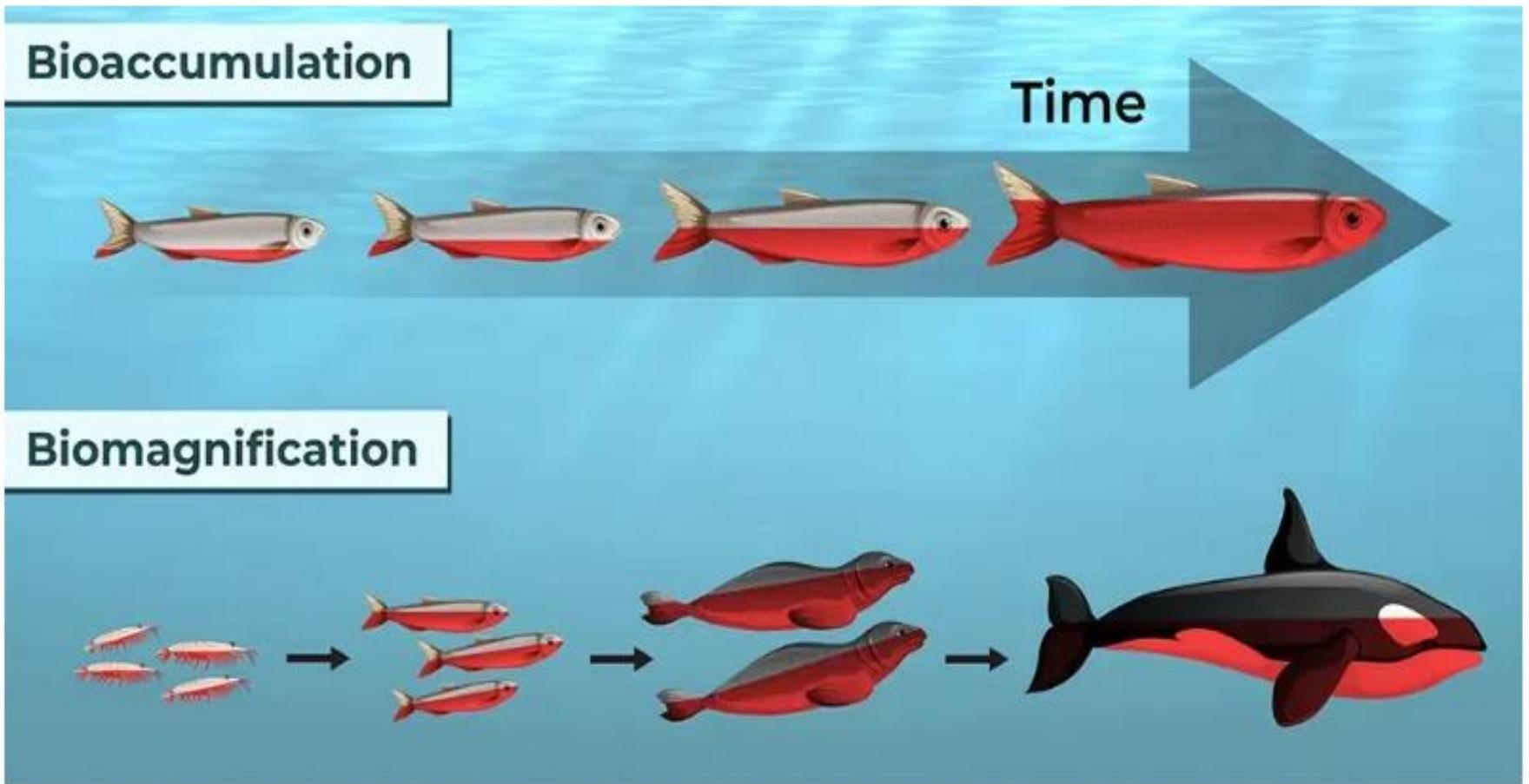
- **Contaminante:** sostanza presente nell'ambiente a concentrazioni superiori rispetto a quelle normali.
- **Inquinante:** sostanza estranea all'ambiente derivante esclusivamente da attività antropiche.

Oppure

- **Contaminante:** si intende la presenza di una sostanza in un bene ad una concentrazione tale da permetterne ancora la fruizione
- **Inquinante:** si intende la presenza di una sostanza in un bene ad una concentrazione tale da **non** permetterne la fruizione

Alcune definizioni

- **Biomagnificazione:** introduzione ed accumulo (concentrazione superiore ai livelli ambientali) di xenobiota in un organismo vivente solo attraverso la via alimentare.
- **Bioaccumulo:** introduzione ed accumulo di xenobiota tramite tutte le vie.
- **Bioconcentrazione:** introduzione ed accumulo di xenobiota solo attraverso la via respiratoria

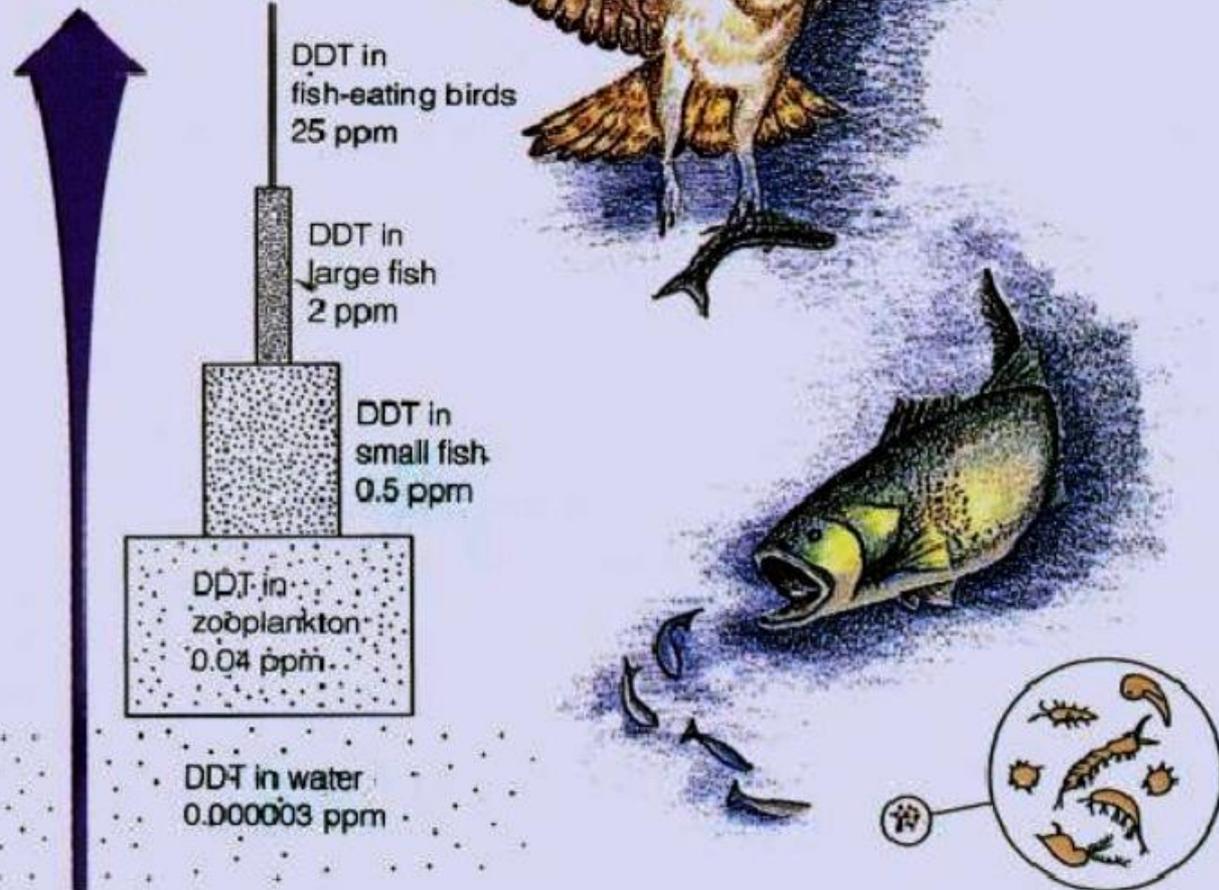


Difference Between Biomagnification and Bioaccumulation

	Biomagnificazione	Bioaccumulo
Definizione	Aumento della concentrazione di una sostanza nella catena alimentare, in genere nei predatori ai livelli trofici più elevati.	Accumulo graduale nel tempo di una sostanza in un organismo, solitamente proveniente dall'ambiente o dal cibo
Evento	le sostanze salgono nei livelli trofici, aumentando la loro concentrazione a ogni passaggio.	Avviene all'interno dei singoli organismi, dove la sostanza si accumula nei tessuti o negli organi.
Direzione	verticale, si sposta dai livelli trofici più bassi a quelli più alti in una catena o rete alimentare.	Può essere sia verticale che orizzontale, poiché la sostanza si accumula nel corpo di un organismo nel corso del tempo.
Cause	Conseguenze dell'ingestione da parte di organismi di prede contaminate o di alimenti contenenti la sostanza.	Deriva dall'assorbimento da parte dell'organismo della sostanza dall'ambiente o tramite la dieta.
Conseguenze	Gli organismi con un livello trofico più elevato spesso subiscono effetti più gravi a causa dell'aumento delle concentrazioni di tossine.	Può causare problemi di salute o impatti ecologici a seconda della tossicità e della persistenza della sostanza.
Esempio	DDT	MERCURIO

BIOMAGNIFICATION

DDT concentration:
increase of
10 million times





L'energia fluisce attraverso l'ecosistema tramite una serie di passaggi (predatore-preda) definiti catena alimentare. Le relazioni alimentari all'interno della catena rappresentano i livelli trofici.



III livello trofico
(consumatori secondari)



II livello trofico
(consumatori primari)



I livello trofico
(Produttori)

PERICOLOSITA' E DESTINO AMBIENTALE delle SOSTANZE CHIMICHE

BIOACCUMULO

- **Il più semplice modello per determinare il bioaccumulo nel tempo**
 - **utilizza un espressione del primo ordine per l'uptake (U) da un'unica sorgente in un unico compartimento**
 - **un espressione del primo ordine per l'eliminazione (E) da quel comportamento.**

$$C(t) = C_1 \cdot \left(\frac{k_U}{k_E} \right) \cdot (1 - e^{-k_E \cdot t})$$

- **C_1 è la concentrazione nella sorgente ad esempio l'acqua;**
- **C la concentrazione nel compartimento, ad esempio il pesce;**
- **K_U è il coefficiente di uptake;**
- **k_E è il coefficiente di eliminazione.**

BIOMAGNIFICAZIONE (B)

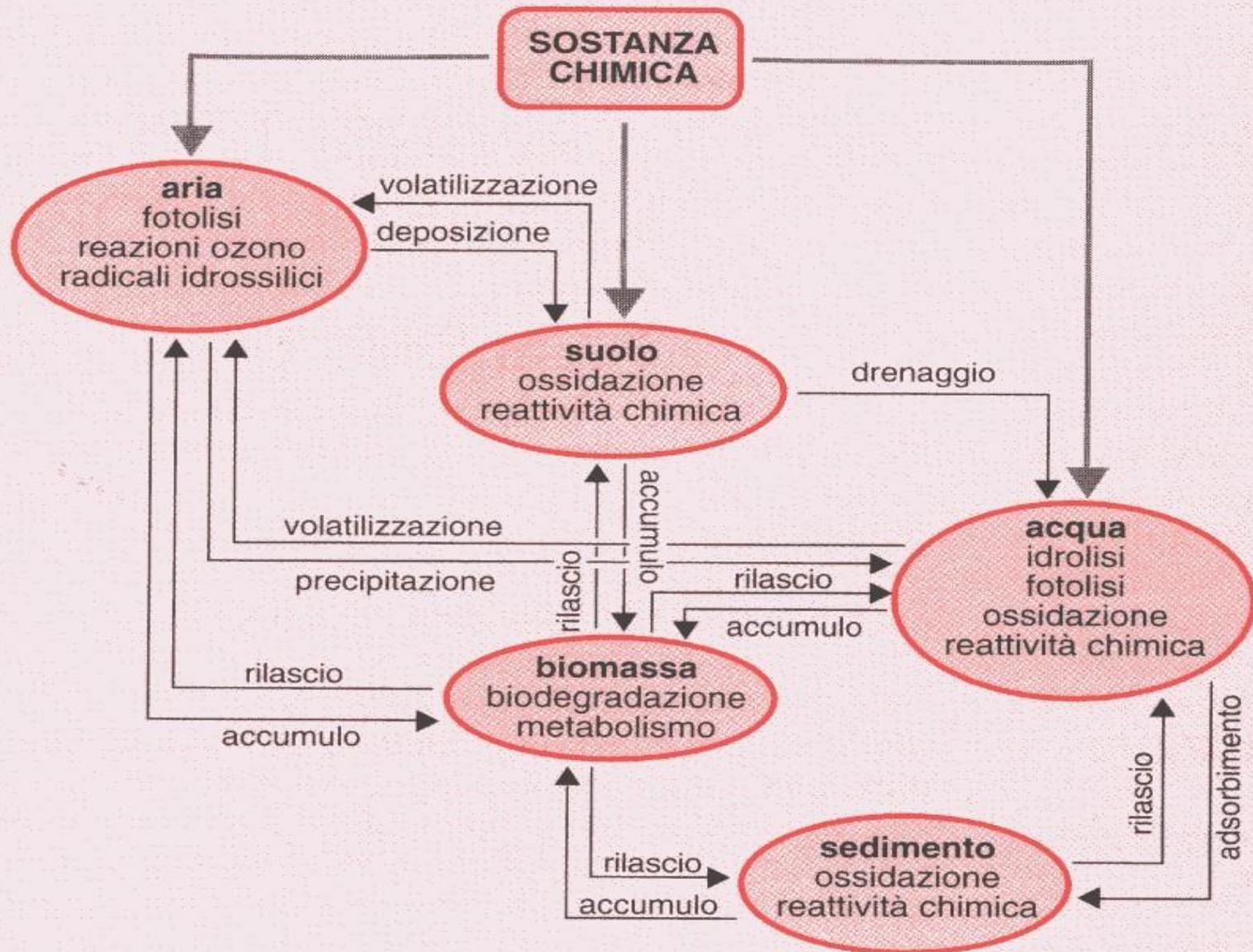
Questo parametro descrive il processo secondo il quale la concentrazione di un contaminante in un organismo è molto maggiore rispetto all'ambiente in cui vive:

- *non solo per la bioconcentrazione*
- *ma anche per l'assunzione di cibo che precedentemente presentava un livello di contaminante elevato.*

Un modo semplice per quantificare la *biomagnificazione* è dividere la concentrazione del contaminante ad un livello trofico n (C_n) con il livello trofico immediatamente più basso (C_{n-1}).

$$B = \frac{C_n}{C_{n-1}}$$

Meccanismi di trasporto nei diversi comparti ambientali



Quali sono?

Quali sono i più interessanti ?

Quali sono i normati (1881/2006)?

- **Contaminanti ed inquinanti**
Organici
- **Contaminanti ed inquinanti**
Inorganici

Aspetti tossicologici di alcuni inquinanti e contaminanti relativi ai prodotti ittici

Contaminanti organici

Idrocarburi Policiclici Aromatici

Inquinanti organici

PoliClorurati Bifenili

PoliCloroDibenzoFurani

PoliCloroDibenzoDiossine

OrganoClorurati

Stannorganici

Contaminanti ed Inquinanti Inorganici

Mercurio

Piombo

Cadmio

Aspetti tossicologici degli IPA

- Composti organici con 3 (ad eccezione del naftalene che ne ha due) o più anelli benzenici contenenti C e H.
- I pesi molecolari vanno da un minimo di 128.17 (naftalene) ad un massimo di 302.28 (dibenzo(b,def)crisene)
- Mediamente presentano una bassa solubilità in acqua, alto punto di fusione e di ebollizione e bassa pressione di vapore

↑ massa

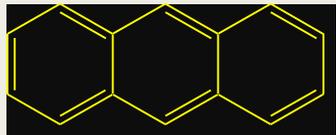
↓ solubilità ↓ pressione di vapore

↑ punto di fusione ↑ punto di ebollizione

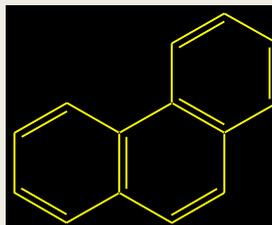
Idrocarburi **P**oliciclici **A**romatici (IPA)

- Composti prodotti per **decomposizione termica** di materiale organico (fonti antropiche e naturali)
 - tutte le forme di combustione incompleta
- Nell'atmosfera legati al particolato (carrier)
- Negli ambienti (aria/ acqua) osserviamo dei gradienti di concentrazione
- Subiscono fotossidazione. Assente nei sedimenti molto profondi
- I sedimenti marini fungono da deposito
- Vengono degradati (più o meno lentamente) da microrganismi
- Presenza nei consumatori vegetariani di microrganismi
- **NO biomagnificazione** (importante capacità di metabolizzazione)

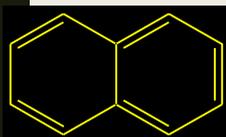
Queste sono le strutture dei 16 idrocarburi policiclici aromatici inseriti nella lista dei "**priority pollutants**" dell' EPA (Environmental Protection Agency) più il benzo[e]pirene



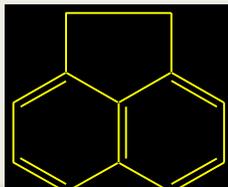
antracene



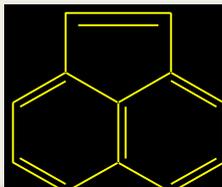
fenantrene



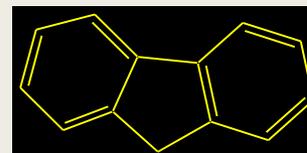
naftalene



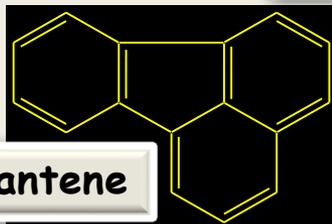
acenaftene



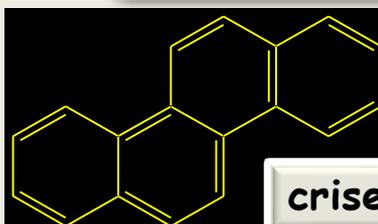
acenaftilene



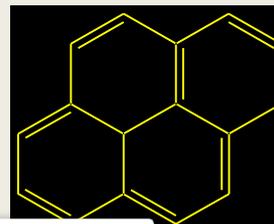
fluorene



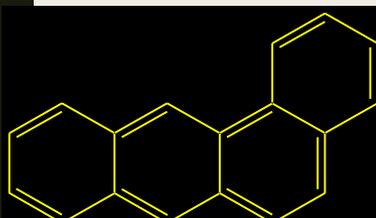
fluorantene



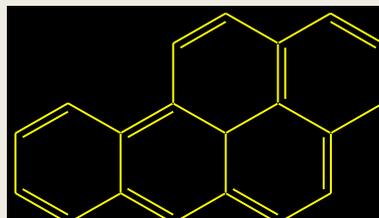
crisene



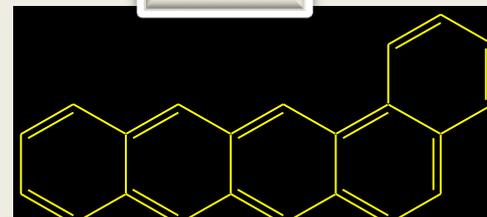
pirene



Benzo[a]antracene

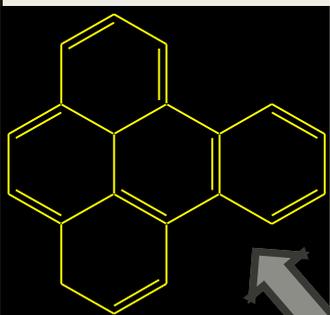


Benzo[a]pirene



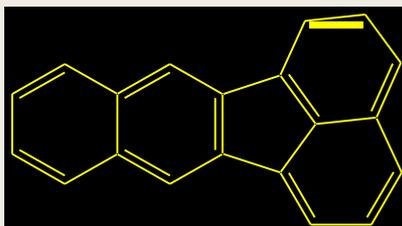
dibenzo[a,h]antracene

Idrocarburi aromatici superiori

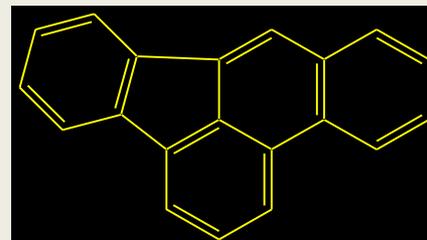


Benzo[e]pirene

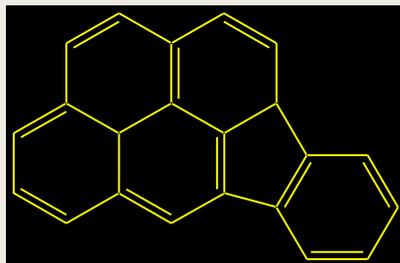
BAY REGION



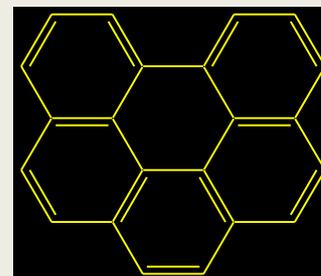
Benzo[k]fluorantene



Benzo[b]fluorantene



Indeno[1,2,3cd]pirene



Benzo[g,h,i]perilene

Alcuni parametri chimico-fisici

	Solubilità in acqua(mmol/l)	pressione di vapore(Pa, 25°C)	logKow(a 25°C)
Naftalene	2.4×10^{-1}	10.9	-
Antracene	3.7×10^{-4}	7.5×10^{-4}	4.54
Fenantrene	7.2×10^{-3}	1.8×10^{-2}	4.57
Acenaftene	2.9×10^{-2}	5.96×10^{-1}	3.92
Acenaftilene	-	-	-
Fluorene	1.2×10^{-2}	8.86×10^{-2}	4.18
Fluorantene	1.3×10^{-3}	2.54×10^{-1}	-
Crisene	1.3×10^{-5}	5.7×10^{-7}	5.86
Pirene	7.2×10^{-4}	8.86×10^{-4}	5.18
Benzo[a]antracene	1.3×10^{-5}	7.3×10^{-6}	5.91
Benzo[a]pirene	1.5×10^{-5}	8.4×10^{-7}	6.04
Dibenzo[a,h]antracene	1.8×10^{-6}	3.7×10^{-10}	6.75
Benzo[e]pirene	-	-	-
Benzo[k]fluorantene	-	-	-
Benzo[b]fluorantene	-	-	-
Indeno[1,2,3cd]pirene	-	-	6.584
Benzo[g,h,I]perilene	2×10^{-5}	6×10^{-8}	-

Effetti Tossici

Idrocarburi Policiclici Aromatici

- TOSSICITA' ACUTA
- Non è rilevante
- 0.2-10 ppm sui microrganismi acquatici
- Inibiscono la divisione cellulare
- Aumentano i costi metabolici - diminuzione crescita
- TOSSICITA' CRONICA
- Immunotossicità
- Mutagenicità (positività ai test di Ames per BaP)
- **Cancerogenicità**
- Fotosensibilizzazione

Effetti Tossici

Idrocarburi **P**oliciclici **A**romatici

CANCEROGENICITA'

Maggiore per i composti a 4 o 5 anelli benzilici

Determinante è l'attivazione metabolica con formazione di metaboliti più attivi (**eossidi**)

Legame covalente tra metaboliti e DNA cellulare

BaP, B(a)A, D(a,h)A, B(b)F, B(k)F, B(j)F
appartengono alla classe 2 dello IARC

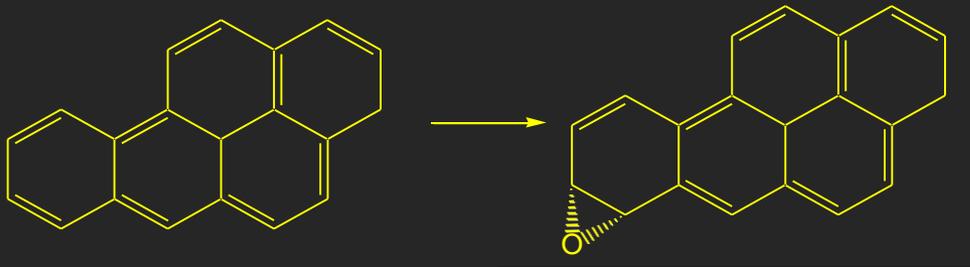
BaP è cancerogeno indipendentemente dalla via
di somministrazione

La combustione della materia organica dà luogo alla generazione di IPA. Questi sono i più abbondanti cancerogeni ad azione indiretta a cui l'uomo è esposto quotidianamente.

- **La bioattivazione degli IPA è necessaria affinché questi agenti mostrino proprietà mutagene, e questa è principalmente mediata dagli enzimi del citocromo P450.**

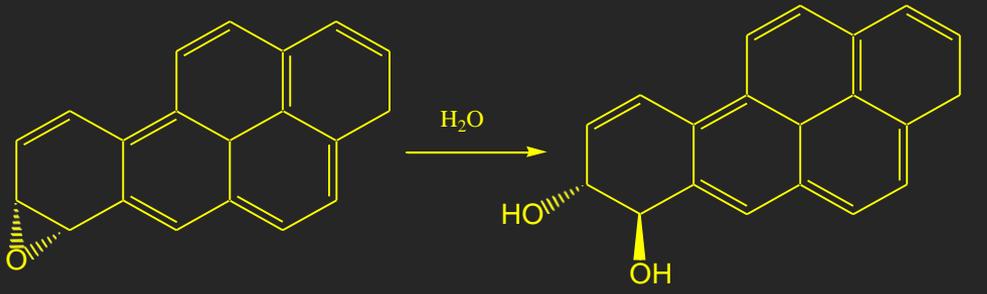
I metaboliti bioattivati prendono di mira più siti genomici, inclusi basi di guanina e adenina tramite epossidi dioli. Ciò si traduce nella generazione di addotti chimici del DNA.

Trasformazioni metaboliche del benzo[a]pirene



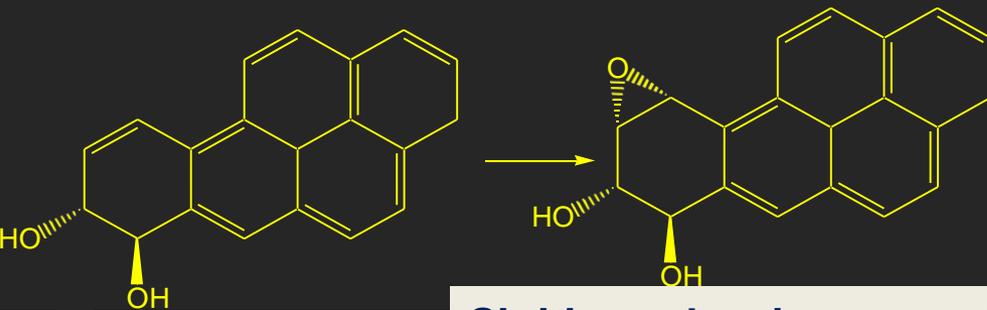
Benzo[a]piren-7,8-ossido

La prima trasformazione è la epossidazione nelle posizioni 7,8, le più reattive, che rappresentano la cosiddetta regione K.



Benzo[a]piren-7,8-diidro-7,8-diolo

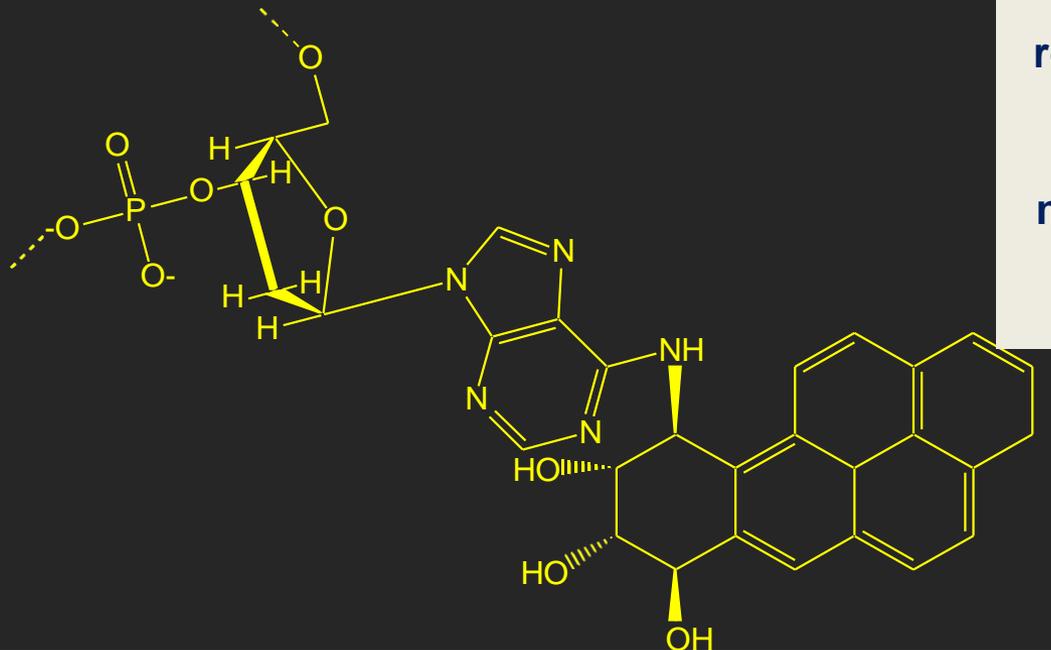
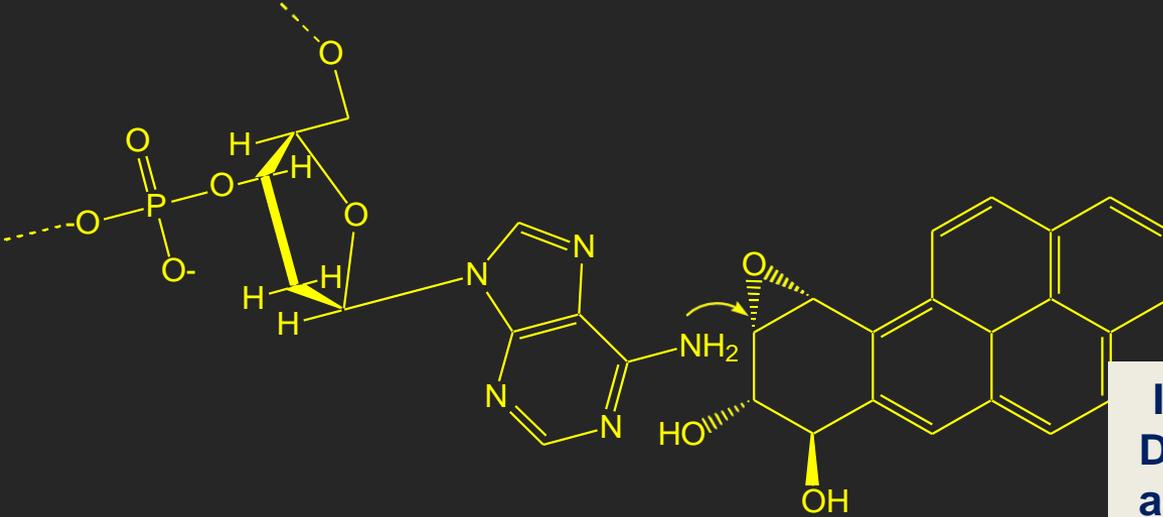
L'epossido subisce un attacco nucleofilo da parte dell'acqua, con formazione di un diolo, più idrosolubile e quindi più facilmente eliminabile.



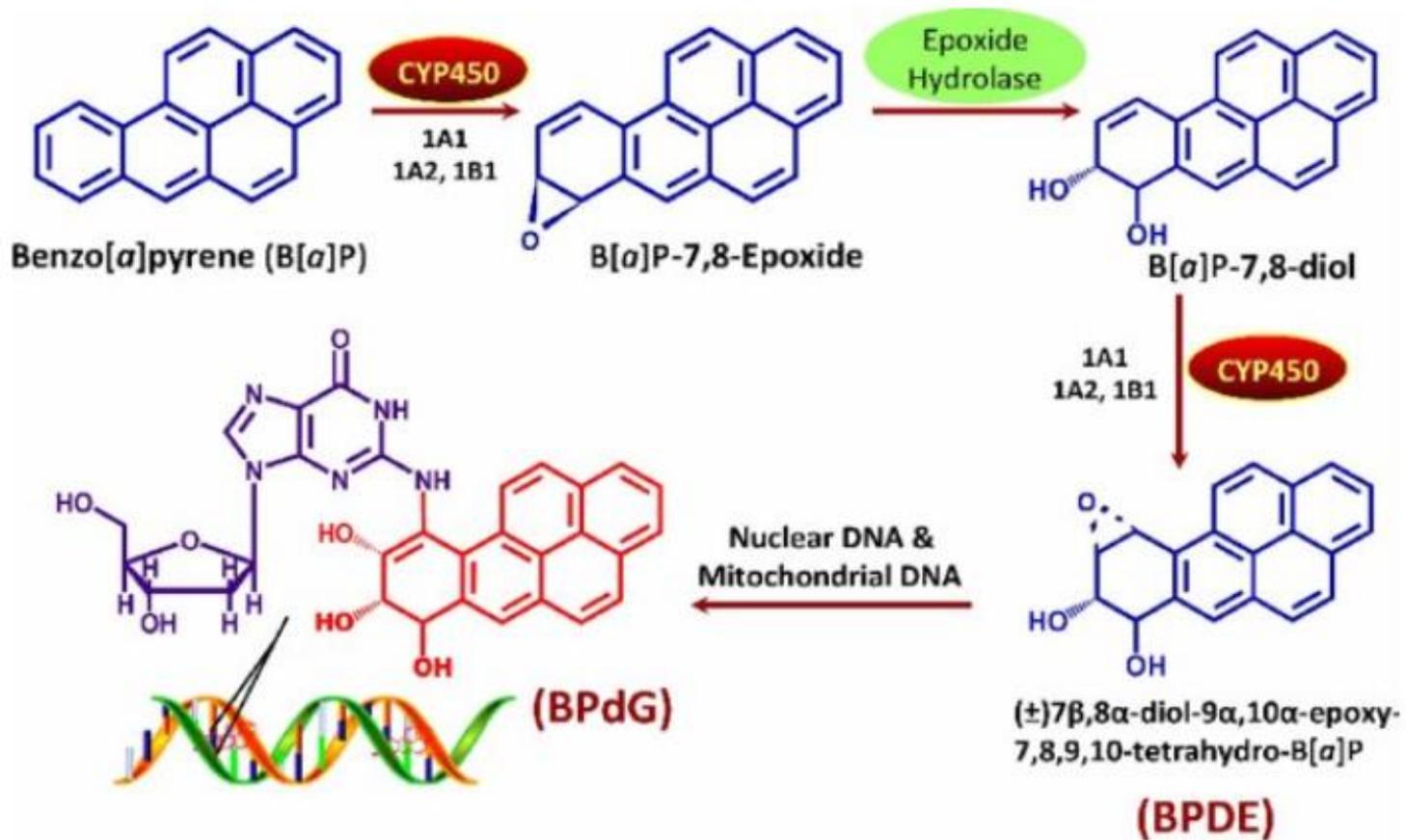
Si ritiene che sia questo diolo epossido la specie effettivamente cancerogena

Una parte delle molecole del diolo vengono ulteriormente epossidate regio- e stereoselettivamente.

Il derivato dell'IPA si lega al DNA



Il diolo epossidico viene legato al DNA attraverso attacco nucleofilo, ad esempio da parte della adenina. L'attacco covalente del grosso residuo idrocarburico rappresenta un evidente danno per il DNA. Questo danno provoca delle mutazioni e, con le mutazioni, una maggiore probabilità di cancerogenesi.



Biochemical Society Transactions (2018)
<https://doi.org/10.1042/BST20180519>

Meccanismo d'azione oncogena del BaP

Meccanismo metabolico:

- a) trasporto al RE mediante una **GH-S-transferasi**
- b) metabolizzazione ad opera del **CYP1A1** in diidrodiol-epossidi
- c) BP7,8-diol-9,10-eossido metabolita carcinogeno finale del BaP

Legame covalente tra il metabolita e il DNA cellulare

- a) mutazione a livello degli oncogeni **K-ras** e **p53**
- b) tessuti sensibili lingua, esofago, fegato, polmoni, pelle

Anche il CYP1B1 è capace di attivare il BaP in diidrodiol - epossidi e si trova in tessuti steroidogeni (ovaio, mammella, utero ecc)

Il 19 agosto 2011 è stato pubblicato il Reg. UE 835/2011 che modifica il Reg. CE 1881/2006 per quanto riguarda i tenori massimi di Idrocarburi Policiclici Aromatici nei prodotti alimentari.

- Benzo[a]pirene
- Benzo (a)antracene
- Benzo(b)fluorantrene
- Crisene

(7) È necessario introdurre nuovi tenori massimi per la somma delle quattro sostanze (IPA4) benzo(a)pirene, crisene, benzo(a)antracene e benzo(b)fluorantene e mantenere nel contempo un tenore massimo separato per il benzo(a)pirene.

(8) Un tale sistema consentirebbe di mantenere il tenore di IPA negli alimenti a livelli non preoccupanti per la salute e fornirebbe la possibilità di controllare la quantità di IPA nei campioni in cui non è individuabile il benzo(a)pirene ma sono presenti altri IPA.

(9) Il tenore massimo separato per il benzo(a)pirene è mantenuto al fine di garantire la comparabilità di dati precedenti e futuri. Dopo un certo periodo di applicazione della presente modifica e in base ai nuovi dati che saranno generati in futuro è opportuno rivalutare la necessità di mantenere un tenore massimo separato per il benzo(a)pirene

Polycyclic aromatic hydrocarbons in marine organisms from the Adriatic Sea, Italy.

Perugini M., Visciano P., Giammarino A., Manera M., Di Nardo W., Amorena M.

Chemosphere. 2007 Jan;66(10):1904-10.

Polycyclic aromatic hydrocarbons in marine organisms from the Gulf of Naples, Tyrrhenian Sea.

Perugini M., Visciano P., Manera M., Turno G.A. Lucisano A., Amorena M.

J Agric Food Chem. 2007 Mar 7;55(5):2049-54.

Polycyclic aromatic hydrocarbons in marine organisms from the Adriatic Sea, Italy.

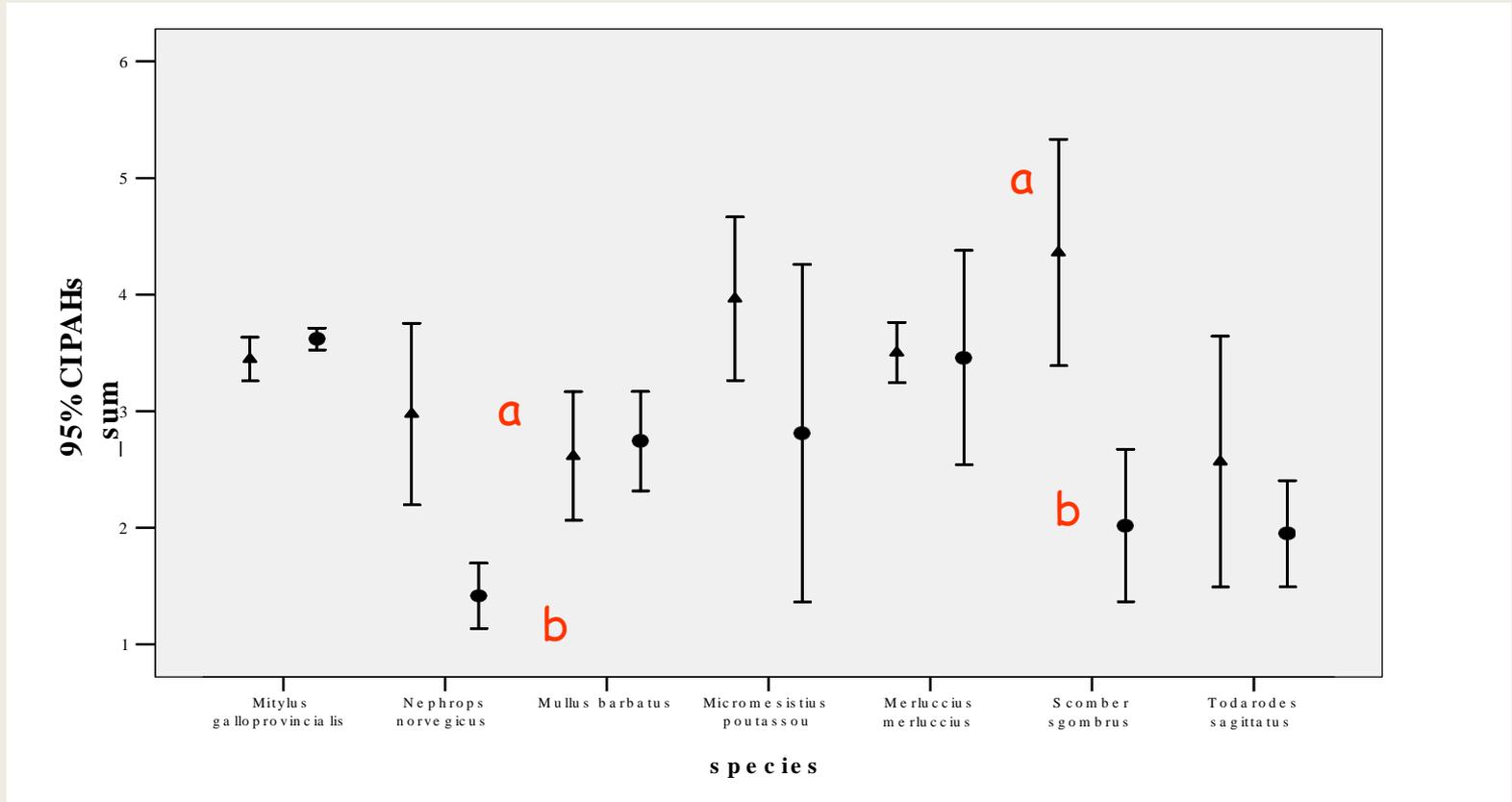
- Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) were analyzed in **bivalves** (*Mitylus galloprovincialis*), **cephalopods** (*Todarodes sagittatus*), **crustaceans** (*Nephrops norvegicus*) and **fish** (*Mullus barbatus*, *Scomber scombrus*, *Micromesistius poutassou*, *Merluccius merluccius*) in several pools coming from the Central Adriatic Sea.

Fluorene, phenanthrene, anthracene, fluoranthene, benz(a)anthracene, benzo(b)fluoranthene and benzo(k)fluoranthene were detected at different concentrations in analyzed samples. Chrysene was detected only in mussels with very low values (average 0.74ngg^{-1} wet weight). PAHs composition pattern was dominated by the presence of PAHs with 3-rings (62%) followed from those with 4-rings (37%) and 5-rings (1%). **Atlantic mackerel, European hake and blue whiting** showed the highest PAH concentrations, ranging from 44.1 to 63.3ngg^{-1} wet weight, the group of invertebrate organisms showed a level of contamination about three times lower than those of the vertebrate groups. Mediterranean mussels that did not present very high levels of contamination expressed as sum of PAHs showed one of the highest values of benzo(a)pyrene equivalents (BaPEs). Conversely the latter value was very low in Atlantic mackerel even if this species reported the highest total PAH concentrations. No significant correlation was observed between weight, length and trophic levels and total PAHs.

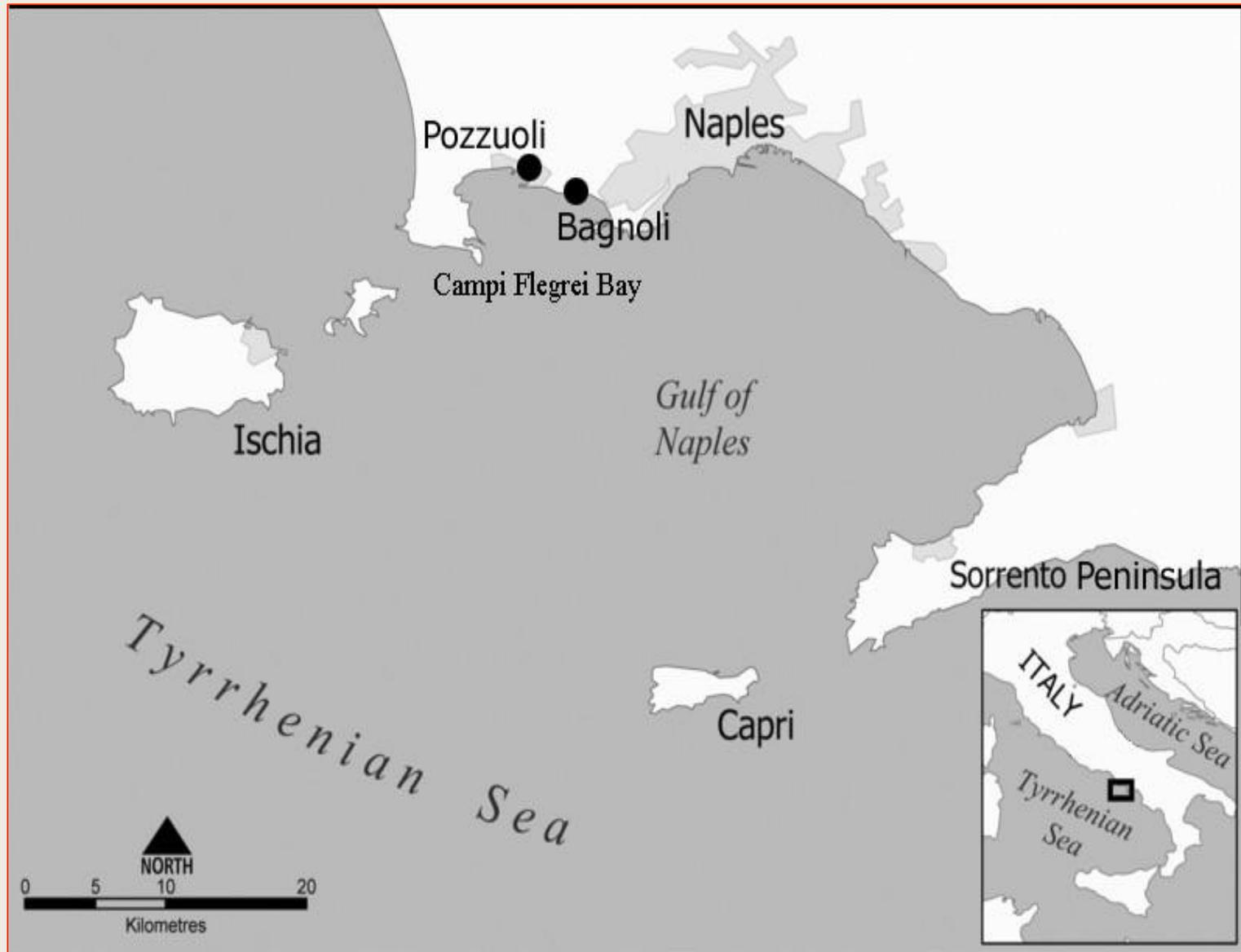
Polycyclic aromatic hydrocarbons in marine organisms from the Gulf of Naples, Tyrrhenian Sea.

Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) were determined by an HPLC method with fluorescence detection in bivalves (*Mitylus galloprovincialis*), cephalopods (*Todarodes sagittatus*), crustaceans (*Aristeus antennatus*), and fish (*Mullus surmeletus*, *Scomber scombrus*, *Micromesistius poutassou*, and *Merluccius merluccius*) caught in the Gulf of Naples (Tyrrhenian Sea, Italy). Anthracene, fluoranthene, pyrene, benz(a)anthracene, chrysene, benzo(b)fluoranthene, and benzo(k)fluoranthene were detected, at different concentrations, in all of the examined marine organisms, whereas benzo(a)pyrene, dibenz(a,h)anthracene, benzo(g,h,i)perylene, and indeno(1,2,3-cd)pyrene were found only in Mediterranean mussels. Of mussels collected in winter 71.43% exceeded the maximum residual levels (MRL) fixed for the benzo(a)pyrene in European Regulation 208/2005/EC, whereas all samples collected in summer reported values lower than this limit. In comparison to the other marine organisms, the mussels showed the highest PAH concentrations ($p < 0.01$). Fish showed total PAH levels lower than those of cephalopods and, in particular, European hake showed the lowest values (6.06 ng/g of fresh weight).

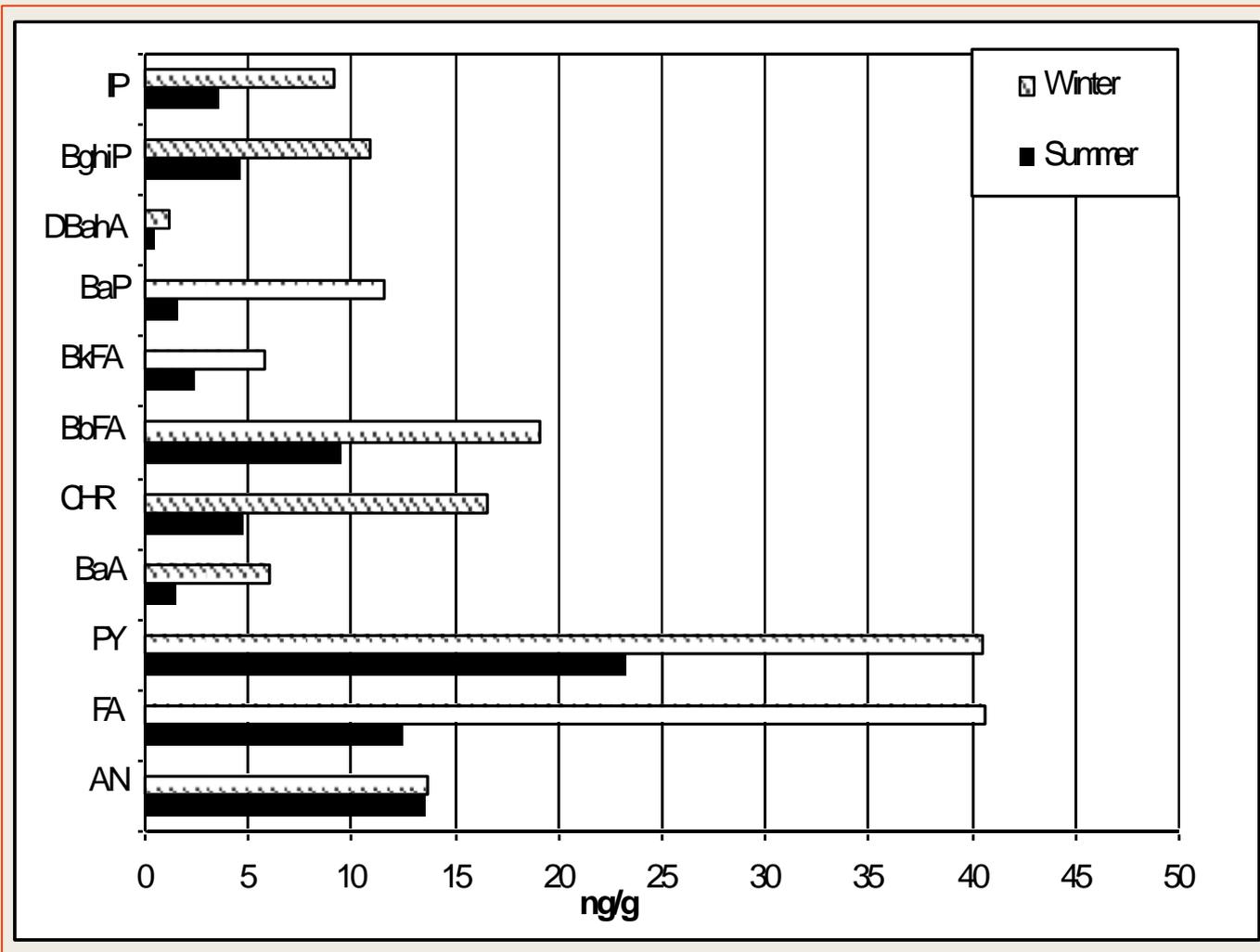
Risultati PAHs



Media ed intervallo di coonfidenza 95% della somma degli IPA (ng/gr grasso) durante la stagione estiva ed invernale



Golfo di Napoli



Distribuzione degli IPA nelle cozze campionate durante la stagione invernale e quella estiva

Seasonal Trend of PAHs Concentrations in Farmed Mussels from the Coastal Areas of the Naples, Italy

2017 Bulletin of environmental contamination and toxicology 99, 3, 333-337

Mauro Esposito, Monia Perugini, Sara Lambiase, Annamaria Conte,
Loredana Baldi, **Michele Amorena**

Abstract This paper reports on the results about the chemical pollution pressure in the Gulf of Naples and nearby coastal areas. Farmed mussels were analysed for the presence of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). The results documented a decreasing trend in the PAHs levels respect to the past years. The Bay of Pozzuoli remains as the most contaminated site within the Lucrino area with the highest reported number of samples exceeding the benzo (a) pyrene and PAHs sum limits. All the samples with concentrations ...

Polycyclic aromatic hydrocarbons in farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) processed by traditional flue gas smoking and by liquid smoke flavourings.

Visciano P, Perugini M, Conte F, Amorena M.

Food Chem Toxicol. 2008 May;46(5):1409-13. doi: 10.1016/j.fct.2008.01.001. Epub 2008 Jan 10. Review.

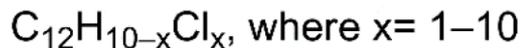
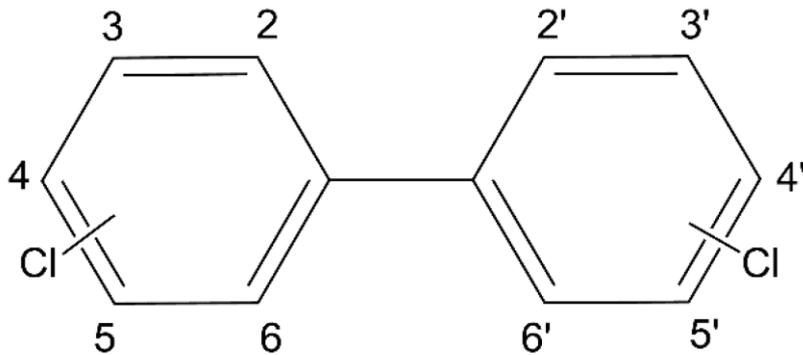
Polycyclic aromatic hydrocarbons in fresh and cold-smoked Atlantic salmon fillets

P Visciano, M Perugini, M Amorena, A Ianieri

Journal of Food Protection & 174; 69 (5), 1134-1138

Inquinanti organici

PoliClorurati Bifenili (PCB)



- In totale possono originare 209 congeneri
- PCB DL (diossina simile)
- PCB NDL (non diossina simile)
- PCB indicatori
- Solo un centinaio sono stati prodotti industrialmente ed usati in miscele (Aroclor, Kaneclor, ecc.)

Prodotte commercialmente fin dagli anni '30 (oli lubrificanti, vernici, sigillanti, fluidi degli impianti di condizionamento)

PCB diossina-simili (**DL**): **12** dei congeneri che mostrano effetti tossici simili alle diossine

- dimensioni molecolari
- conformazione planare

I congeneri *non* planari: non diossina-simili

PCB_{dl} (nome IUPAC)

3,3',4,4'-TCB (77)

3,4,4',5-TCB (81)

3,3',4,4',5-PeCB (126)

3,3',4,4',5,5'-HxCB (169)

2,3,3',4,4'-PeCB (105)

2,3,4,4',5-PeCB (114)

2,3',4,4',5-PeCB (118)

2',3,4,4',5-PeCB (123)

2,3,3',4,4',5-HxCB (156)

2,3,3',4,4',5'-HxCB (157)

2,3',4,4',5,5'-HxCB (167)

2,3,3',4,4',5,5'-HpCB (189)

PoliClorurati Bifenili

- molto stabili, resistenti ad acidi ed alcali ed alla fotodegradazione, non sono ossidabili, non attaccano i metalli
- poco solubili in acqua ma lo sono in olio e solventi organici quali alcol e acetone.
- Evaporano ad oltre 800°C e si decompongono solo oltre i 1000°C
- Si presentano come liquidi oleosi, trasparenti, viscosi

↑ all'aumentare del Cl

↓ K_{aw}

↑ K_{OC}

↑ K_{OW}

- Punto di ebollizione fra 278 e 415°C (elevata stabilità termica)

I PCB erano generalmente utilizzati in due tipologie d'applicazione:

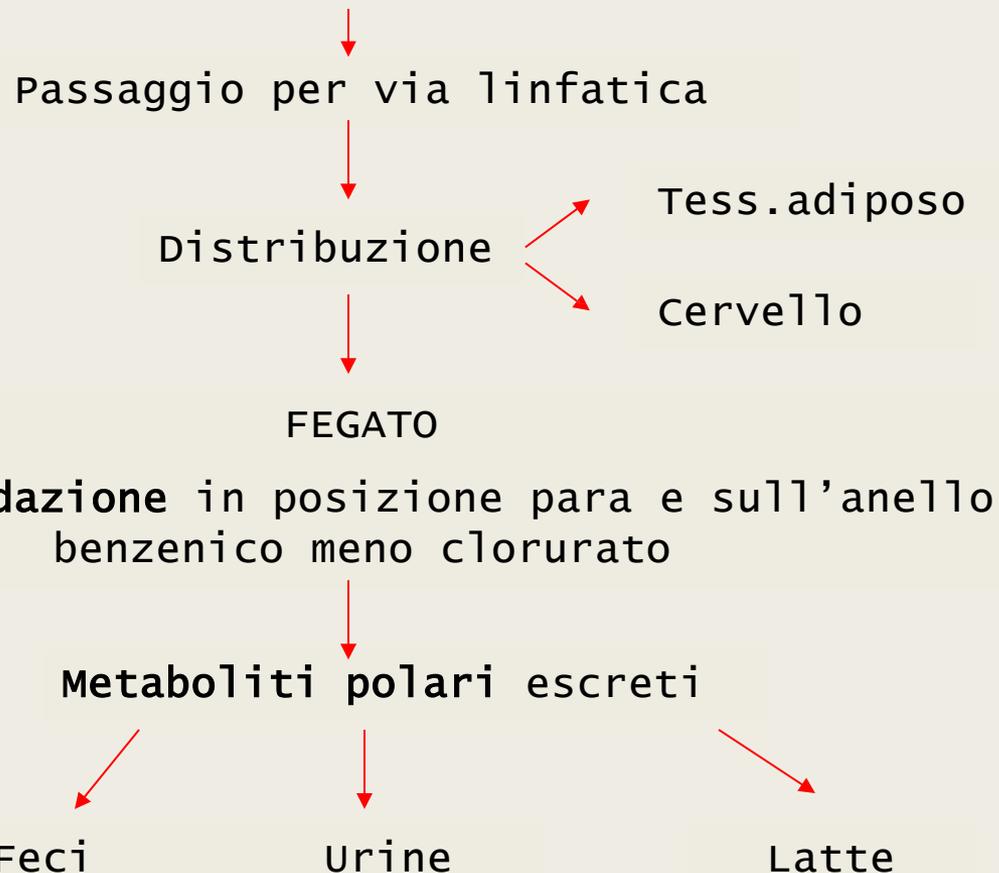
- **nei sistemi chiusi** come ad esempio fluidi dielettrici in apparecchiature elettriche (principalmente trasformatori); di questi usi le principali vie di contaminazione ambientale sono riconducibili a perdite, incendi, scarichi illeciti e smaltimento inadeguato;
- **nei sistemi aperti** come additivi per antiparassitari, ritardanti di fiamma, isolanti, vernici, ecc.; tra questi usi le principali fonti di contaminazione ambientale sono le discariche, la migrazione di particelle e l'emissione in atmosfera a seguito di evaporazione.

Sistemi chiusi	Olio	Per trasformatori: centrali termoelettriche, navi, industrie, edifici, treni, metropolitane, tram, generatori, televisori, ecc.
		Per condensatori: centrali, industrie, forni elettrici, navi, motori, lampade a mercurio e fluorescenti, apparecchi telegrafici, lavatrici, frigoriferi, condizionatori d'aria, televisori, elaboratori elettronici, ecc.
	Altri usi	Cavi elettrici, trivelle, ecc.
Sistemi aperti	Conduttore di calore	Apparecchi per riscaldamento e raffreddamento
	Olio lubrificante	Apparecchiature operanti ad alta temperatura, alta pressione, sott'acqua, pompe ad olio, compressori
	Elasticizzante	Colle, vernici, grassi sintetici, asfalto, inchiostri per stampe
	Elasticizzante ed isolante	Guaine per conduttori di elettricità, nastri isolanti, altri usi in campo elettrotecnico
	Elasticizzante ed antinfiammante	Fibre sintetiche, plastiche, gomme.
	Carte	Carte autocopianti, carte carbone, carte per fotocopie
	Altri	Tinture per carte, tessuti, vernici per metalli, additivi per anticrittogamici, coloranti per vetro e ceramiche, antipolvere, antiossidanti per fusibili, additivi per petrolio, additivi per fertilizzanti

Tossicocinetica

Assorbimento enterico

(superiore 90% per 76 e 126)



PoliClorurati Bifenili- TOSSICITA' (2A)

- **PCB diossina simile** (77-81-105-114-118-123-126-156-157-167-169-189)
- **PCB non diossina simile**
 - A livello epatico: Induzione del CYP2B; ipertrofia, steatosi, necrosi.
 - Neurotossicità (riduzione dei livelli di dopamina; alterazione dell'omeostasi del Ca) con riduzione della capacità di apprendimento
 - Immunotossicità (mancata degranolazione dei neutrofili)
 - Azione estrogenica o
 - Alopecia e cloracne (fenomeni acuti)

*Assessment of Edible Marine Species in the Adriatic Sea for Contamination from **Polychlorinated Biphenyls and organochlorine** Insecticides*

Perugini M., Giammarino A., Olivieri V., Di Nardo W., Amorena M.
Journal of Food Protection, (2006) Vol 69, n°5, 1144-1149

*“**Polychlorinated biphenyls** and organochlorine pesticide levels in tissues of **Caretta caretta** from the Adriatic Sea”.*

Perugini M., Giammarino A., Olivieri V., Guccione S., Lai OR., Amorena M.
Diseases of Aquatic Organisms (2006) 71:2, 155-161

Levels of polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides in some edible marine organisms from the Central Adriatic Sea

M Perugini, M Cavaliere, A Giammarino, P Mazzone, V Olivieri, M Amorena
Chemosphere (2004) 57 (5), 391-400

PCB concentrations in freshwater wild brown trouts (< i> Salmo trutta trutta</i> L) from Marche rivers, Central Italy

A Piersanti, M Amorena, M Manera, T Tavoloni, C Lestingi, M Perugini
Ecotoxicology and environmental safety (2012) 84, 355-9

CAMPIONAMENTO

- *Mytilus galloprovincialis*



- *Nephrops norvegicus*



- *Mullus barbatus*



- *Todarodes sagittatus*



- *Merluccius merluccius*



- *Micromesistius poutassou*



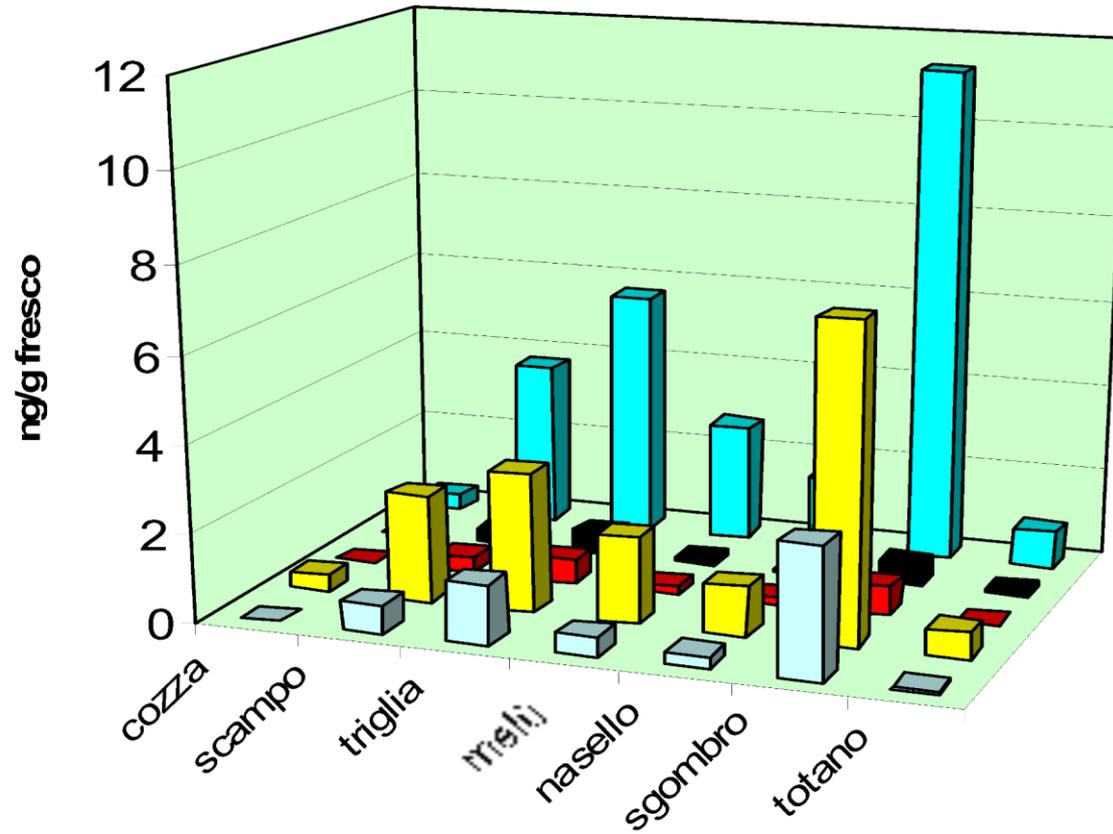
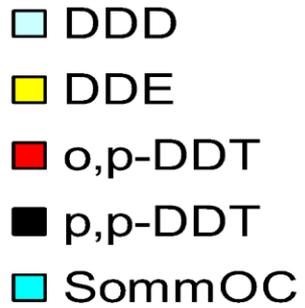
- *Scomber scombrus*



Assessment of Edible Marine Species in the Adriatic Sea for Contamination from Polychlorinated Biphenyls and organochlorine Insecticides

It is estimated that 90% of human exposure to persistent organic pollutants is through food, and fish and shellfish represent an important source of contamination for polychlorinated biphenyls (PCBs) and organochlorine insecticides. To evaluate the levels of seafood contamination coming from the central Adriatic Sea, Italy, **a study involving several pools of shellfish, crustaceans, and fish was carried out.** Several marine species were selected by their abundance, wide distribution, and common use in the Italian diet and sampled and analyzed during 2004. **The concentration of total (sigma) PCBs exceeded that of total dichlorodiphenyltrichloroethanes (DDTs) in all samples.** Atlantic **mackerel** showed the highest concentrations of PCBs, ranging from 514 to 1772 ng/g of fat weight, and DDTs, ranging from 52 to 656 ng/g of fat weight. The lowest concentrations of PCBs and DDTs were found in cephalopods and mussels. Despite this, to protect human health from these pollutants, legal limits have been established for fish and shellfish for DDTs but not PCBs. The most common representative PCB congeners, in all species, were PCB 153 and PCB 138; the most common DDT was p,p'-dichlorodiphenyldichloroethylene.

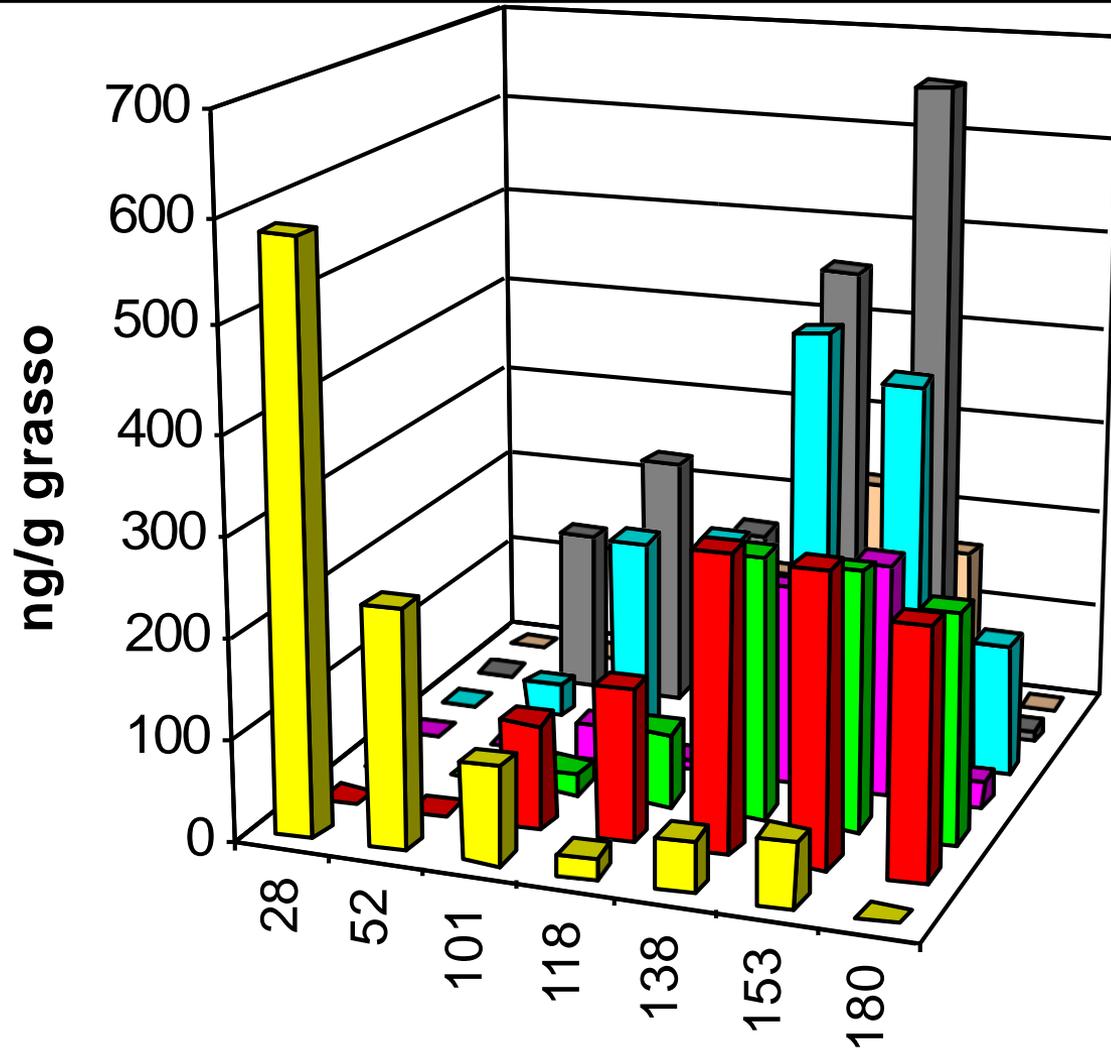
Risultati DDTs



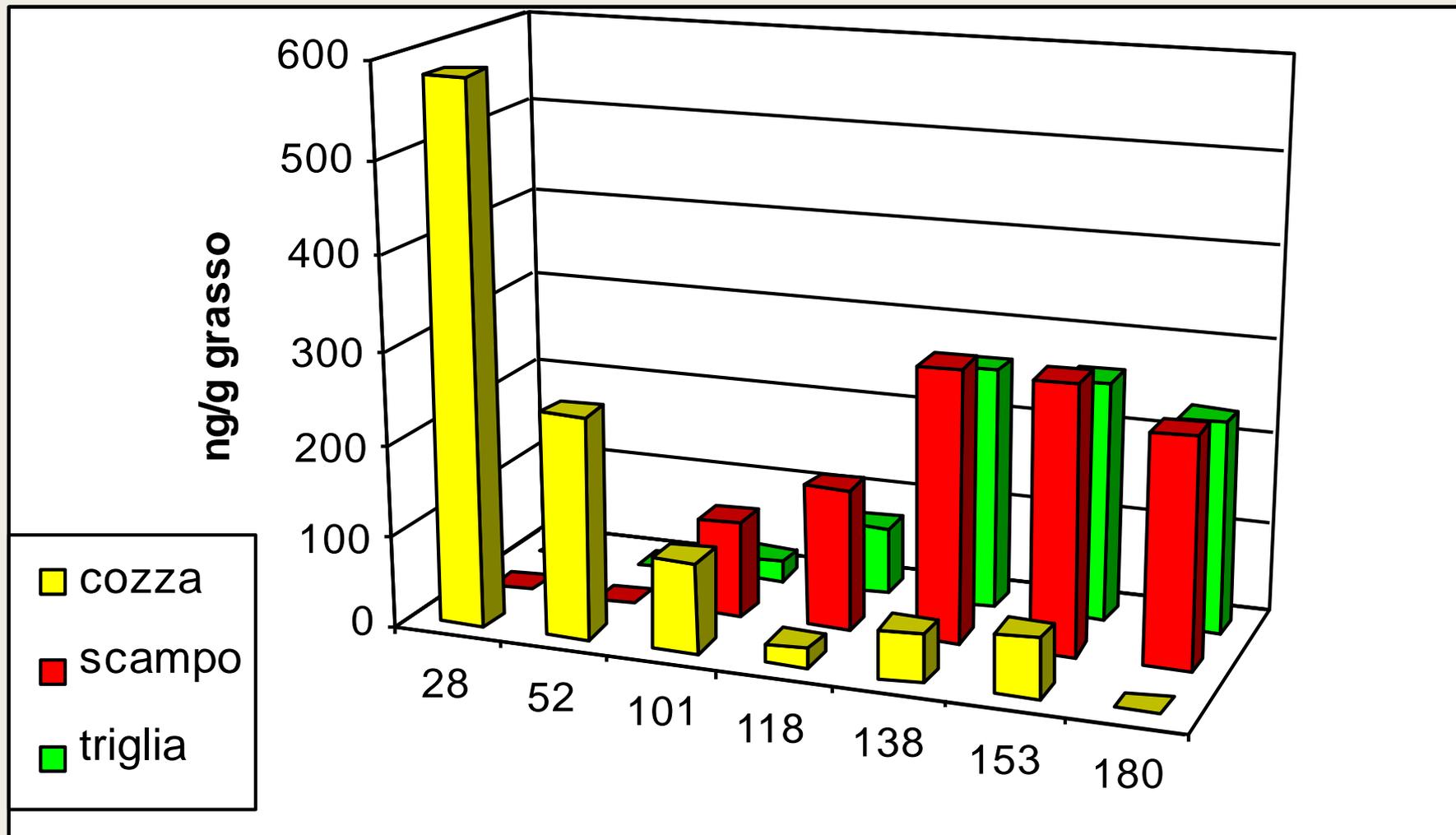
Levels of polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides in some edible marine organisms from the Central Adriatic Sea

- Concentrations of polychlorinated biphenyls (PCBs) and organochlorine pesticides (OCs) were found in tissue of marine organisms such as Mediterranean mussel, Norway lobster, red mullet, common cuttle-fish, European flying squid, European anchovy, European pilchard and Atlantic mackerel, coming from two sites along the Abruzzo coast of the Adriatic Sea. Species were selected due to their habitat, trophic level, feeding behaviour and their use in the Italian diet. Mussels, filter feeder and sedentary organisms, were used in order to test water pollution whereas Norway lobster and red mullet (benthic fish) were used in order to test sediment pollution. The concentration of Σ PCBs exceeded that of Σ OCs in the samples analysed. **The highest concentrations of Σ PCBs (1415 ng/g lipid weight) and Σ OCs (507 ng/g lipid weight) were found in pilchard while the lowest concentrations of the same pollutants were found in cephalopods.** Our results have shown that species such as anchovy, pilchard and mackerel, were the most polluted due to their location at the last level of the trophic chain. All samples contained different concentrations of PCBs and among these, congeners 153 and 138 were the most representative. Among the OCs, except for the cuttle-fish, the highest concentrations were found for p,p'-DDE and p,p'-DDD that are metabolite of DDT. The prevailing DDE presence, compared to DDT (high DDE/DDT ratio), suggested that the biotransformation rate of pollutants was very efficacious in fish and above all in crustaceans. Results have also been interpreted in terms of geographical distribution and organisms' biological cycle. None of the samples analysed exceeded the tolerance limits established by the OCs Italian legislation.

Risultati PCBs



Risultati PCBs



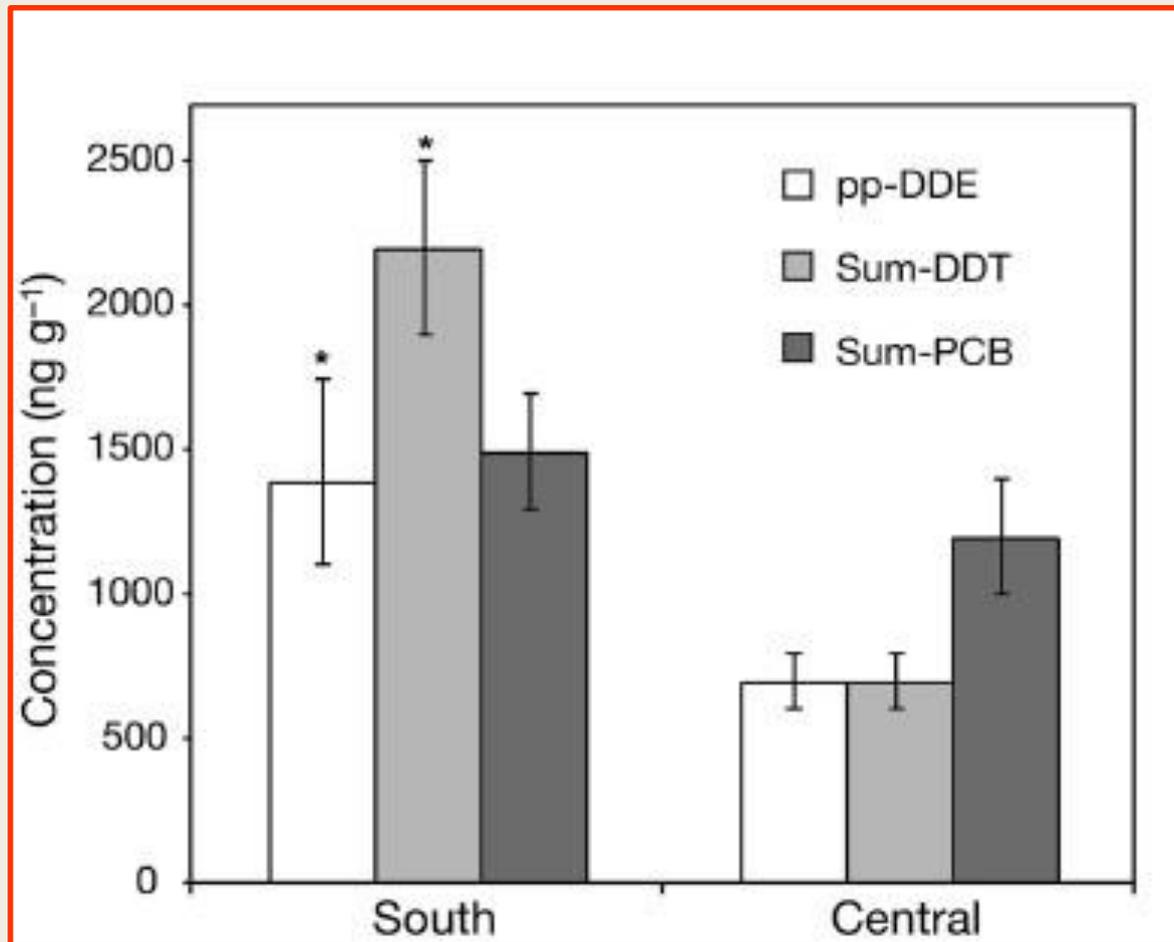
“Polychlorinated biphenyls and Organochlorine pesticide levels in tissues of *Caretta caretta* from the Adriatic Sea”.

Perugini M., Giammarino A., Olivieri V., Guccione S., Lai OR.,
Amorena M.

Diseases of Aquatic Organisms (2006) 71:2, 155-161

We detected concentrations of polychlorinated biphenyls (PCBs) and organochlorine pesticides (OCs) in the liver, muscle, and fat of 11 loggerhead sea turtles *Caretta caretta* from the central and southern Adriatic Sea. All samples contained PCBs at various concentrations, with Congener 138 (28%), 153 (27%), and 180 (32%) dominating the congener composition of the tissues. The dioxin-like congener (118, 13%) was detected in all tissues analyzed. The lower-chlorinated PCBs were not detected. The average of the total PCB concentrations, expressed in nanograms per gram wet weight, was 459.6 ng g(-1) in fat, 82.9 ng g(-1) in liver, and 5.8 ng g(-1) in muscle. Among 13 organochlorine pesticides for which analyses were conducted, 4 were detected: p,p'-DDE (57%); p,p'-DDD (16%); and p,p'-DDT and o,p'-DDT (27%). Spatial differences were found among OC concentrations in loggerheads from the central and southern Adriatic Sea. **The only samples containing detectable concentrations of p,p'-DDT and o,p'-DDT were from the southern area.**

Risultati DDTs



Media \pm DS delle concentrazioni della somma dei PCBs, p,p'-DDE e somma dei DDT in campioni di *Caretta caretta* provenienti dall'adriatico centrale e da quello del sud, espresse in ng/gr grasso.

Presenza di DDT in una catena trofica marina

Biota	Regioni	DDT totale (ppb o ng/g)
Zooplankton	Islanda	8-150
	Stretto di Barrow	2-20
Anfipodi		
Pelagici	Stretto Islanda	<350
Pelagici	di Barrow	3-60
Bentonici	Oceano Artico	2,200-25,900
Bentonici	Stretto di Barrow	15-1,590
Pesci		
Merluzzo artico	Stretto di Lancaster	66-120
	Stretto di Barrow	15-255
Rombo gigante	Stretto di Cumberland	626-1,044
	Mare di Beaufort	659-1,1251
Sculpin a 4 antenne	Baia di Wellington	93
	Baia di Cambridge	1,225
	Hall Beech	135
Bivalvi		
Vongole	Sanikiluaq	34

Interferente endocrino

Le sostanze che agiscono come interferenti endocrini sono molteplici e dalla molteplicità di usi ne consegue una vasta esposizione nell'ambiente, negli alimenti, in ambiente lavorativo e domestico e, inoltre, una varietà di meccanismi con bersagli ed effetti vari.

Tali molecole esplicano due attività fondamentali:

- attività **similestrogenica**;
- attività **antiandrogenica** (alterazioni fertilità): malformazioni (criptorchidismo, ipospadia); neoplasie (seminomi); **riduzione della qualità del seme**; soppressione dell'espressione dei recettori androgenici; incremento dell'attività estrogenica con conseguente riduzione della produzione del testosterone. (**Riduzione della fertilità**)

Perché vengono chiamati interferenti endocrini?

Interferente endocrino una sostanza esogena o miscela (generalmente contaminanti ambientali o alimentari) in grado di *alterare la funzionalità del sistema endocrino* causando effetti avversi sulla salute di un organismo, oppure della sua progenie o di una popolazione.

Interferenti endocrini normati e non normati

Sostanze normate

Diossine

PCB diossina simili

Benzo[a]pirene

Benzo (a)antracene

Benzo(b)fluorantrene

Crisene

Mercurio

Stagno (tributi-dibutil)

Bisfenolo A

Sostanze non normate

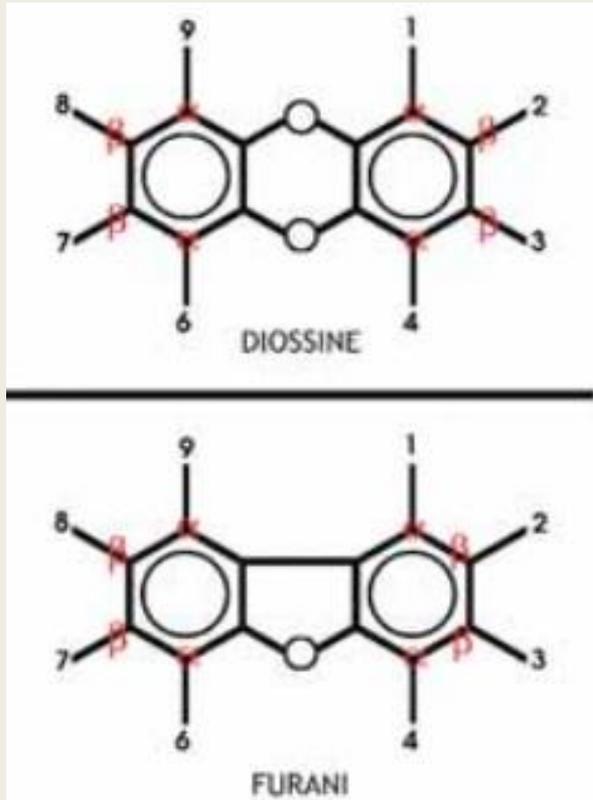
PBB

PBDE

Ftalati

Triclosan

DIOSSINE



- sono sottoprodotti indesiderati di una serie di processi chimici e/o di combustione.
- Il termine fa riferimento a un gruppo di 210 composti chimici aromatici **policlorurati**, ossia formati da carbonio, idrogeno, ossigeno e cloro,
- divisi in due famiglie: **dibenzo-p-diossine** (PCDD o propriamente “diossine”) e
- **dibenzo-p-furani** (PCDF o “furani”).

DALLAREAZIONE DI OSSIDAZIONE DEI PCB POSSONO DERIVARE:

POLICLORODIBENZODIOSSINE POLICLORODIBENZOFURANI

SI FORMANO DURANTE LA COMBUSTIONE: (>200 <500 °C)

- . combustione industriale: cementifici, inceneritori, acciaierie
- . combustione residenziale (legna e carbone)
- . incendi
- . fumo di sigaretta
- . emissioni dei motori



Soprattutto se sono coinvolte materie plastiche (Cl) e metalli (Fe Cu)

Nel suolo si legano alla frazione organica presente e, una volta adsorbite (ovvero “legate” e concentrate su un superficie, rappresentata, ad esempio, dalla fase solida del suolo), rimangono relativamente immobili.

Fonti di diossina

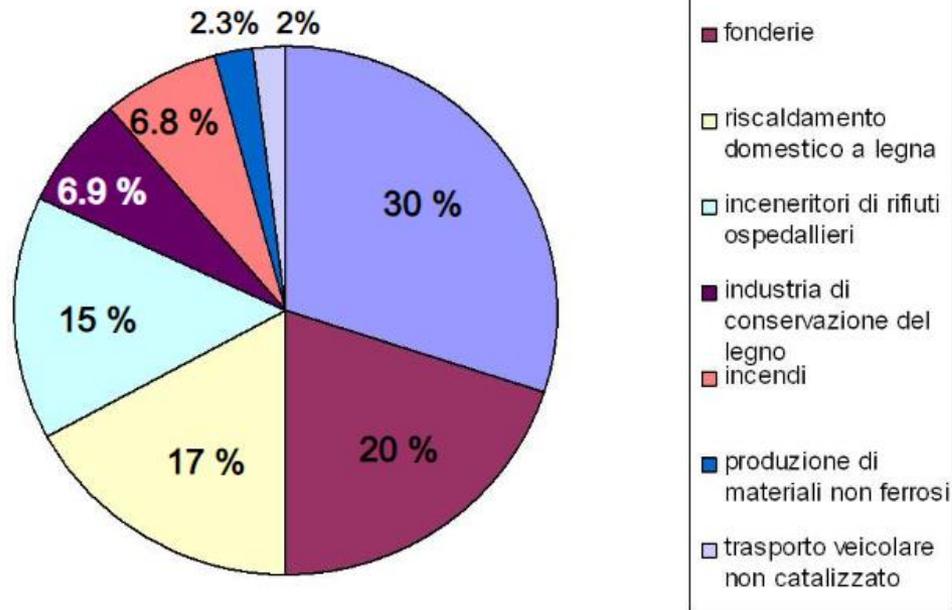
ANTROPICHE

- PVC: produzione di materie prime(DCE/VCM)
- Industria cartiera : sbiancamento con cloro
- Combustione di benzina o nafta contenenti additivi organoclorurati
- Incenerimento di biogas e fanghi
- Incendi accidentali in abitazioni, uffici (PVC) e impianti industriali
- Inceneritori per rifiuti nocivi (solventi,rifiuti dell' industria chimica)
- Riciclaggio/fusione dei cavi di rame(PVC)
- Incenerimento di rifiuti ospedalieri e solidi urbani
- Industria metallurgica

NATURALI

- Combustioni in presenza di precursori clorurati
- Combustioni in assenza di precursori clorurati
- Microrganismi (alghe, funghi, batteri)

Fonti di PCDD/F in Europa negli anni '90



Nel Regolamento CE 2375/2001 fu evidenziato per la prima volta che il 90 % dell'esposizione umana cronica alla diossina è dovuta all'alimentazione, di cui circa l'80% deriva dal consumo di alimenti di origine animale provenienti da organismi terrestri ed acquatici che abbiano bio-accumulato questi composti.

Gli alimenti maggiormente a rischio risultano essere:

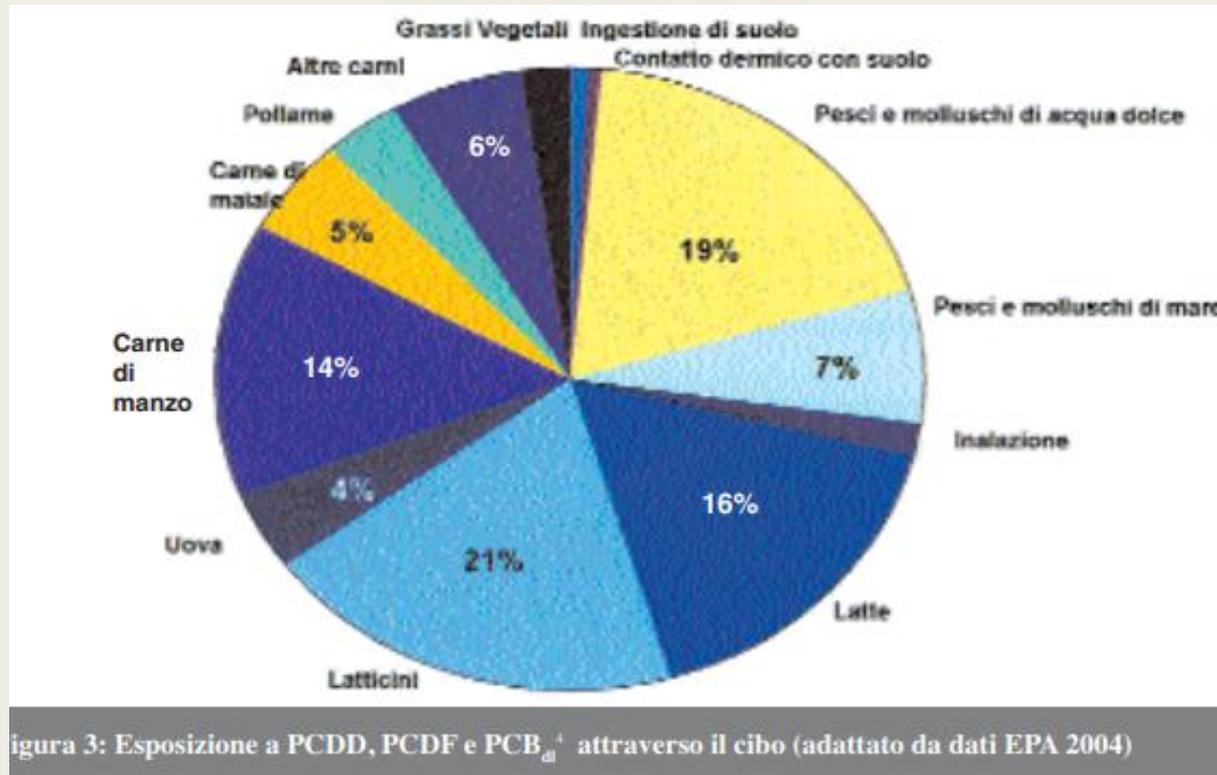
Pesce

Carne

Latte

Prodotti lattiero-caseari

- circa il 95% dell'esposizione alle diossine avviene attraverso cibi contaminati



A causa della loro presenza ubiquitaria nell'ambiente, persistenza e liposolubilità, le diossine tendono, nel tempo, ad accumularsi negli organismi viventi, si accumulano cioè nei tessuti ed organi dell'uomo e degli animali. Inoltre, salendo nella catena trofica (alimentare), la concentrazione di tali sostanze può aumentare (biomagnificazione), giungendo ad esporre a rischio maggiore il vertice di detta catena.

PoliCloroDibenzoFurani PoliCloroDibenzoDiossine

- **POLICLORODIBENZODIOSSINE (PCDD) n=75**
- **POLICLORODIBENZOFURANI (PCDF) n=13**

PoliCloroDibenzoDiossine

DIOSSINA :2,3,7,8

TETRACLORODIBENZOPARADIOSSINA (TCDD)-
congenere di riferimento considerato il più tossico

LA TCDD E' UNA SOSTANZA :

- INODORE
- CON PUNTO DI FUSIONE DI 307C°
- TERMOSTABILE FINO A 800C°
- LIPOSOLUBILE
- RESISTENTE AD ACIDI E ALCALI

PoliCloroDibenzoDiossine

ALTRE 16 DIOSSINE CONSIDERATE

La tossicità di questo gruppo di molecole viene espressa in riferimento al congenere più tossico, la

2,3,7,8-TCDD

La tossicità si misura in equivalenti di tossicità o TEQ (*International Toxicity Equivalents*)

- La tossicità delle diossine si calcola usando il sistema standardizzato TEQ (toxicity equivalent). In pratica si tiene conto del fatto che esistono molte diossine, ciascuna con una tossicità diversa.
- Dunque, la differente tossicità si esprime utilizzando un fattore di «correzione» TEF (fattore di equivalenza tossica) che verrà moltiplicato per la concentrazione del composto in esame.
- In questo modo, ad ogni composto riesco a dare un «peso» (in termini di tossicità) differente

FATTORE DI TOSSICITA' DELLE DIOSSINE

I-TEF (*International Toxicity Factor*)

	I-TEF	WHO TEF
2,3,7,8-T₄CDD	1	1
1,2,3,7,8-P₅CDD	0.5	1
1,2,3,4,7,8-H₆CDD	0.1	0.1
1,2,3,4,6,7,8-H₇CDD	0.01	0.01
O₈CDD	0.001	0.0003

ESEMPIO DI CALCOLO

1 g P₅CDD x 0.5 TEF = 0.5 g TEQ (ho applicato un fattore di correzione)

1 g TCDD +0.5 = 1.5 g TCDDTEQ

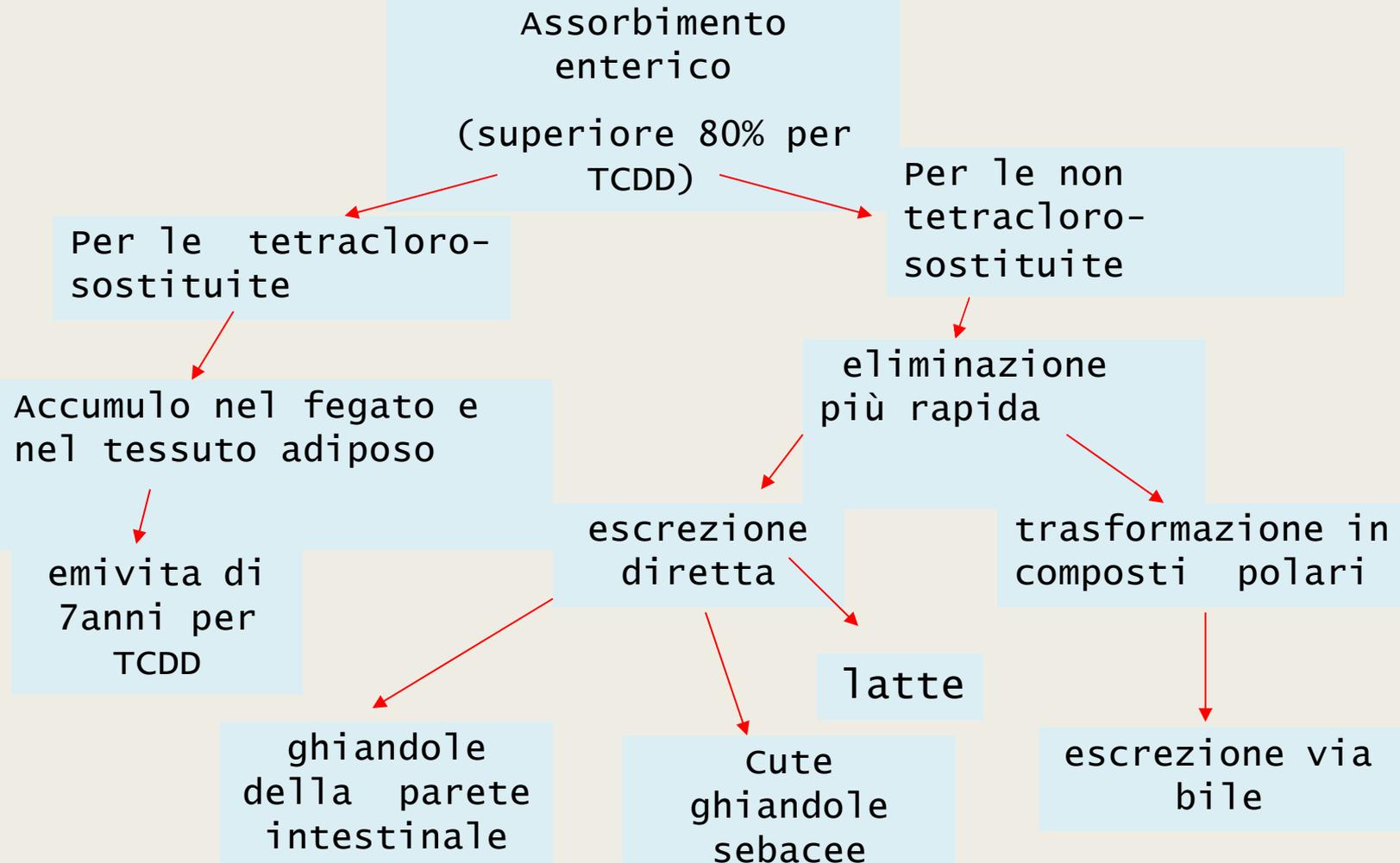
Generalmente le diossine non vengono rilevate nelle diverse matrici come singoli composti, ma come miscele complesse dei diversi congeneri; si ribadisce, inoltre, che non tutti i congeneri sono tossici o lo sono alla stessa maniera.

Totale TEQ = $\sum(\text{concentrazione } i \times \text{TEF } i)$

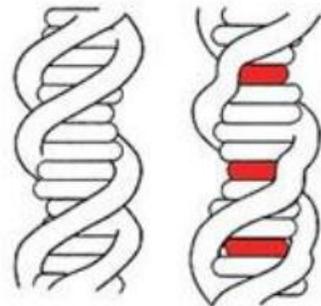
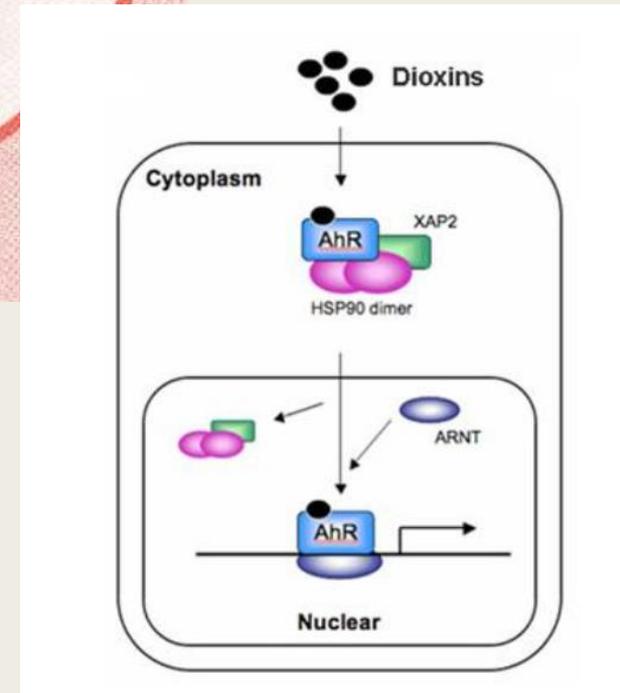
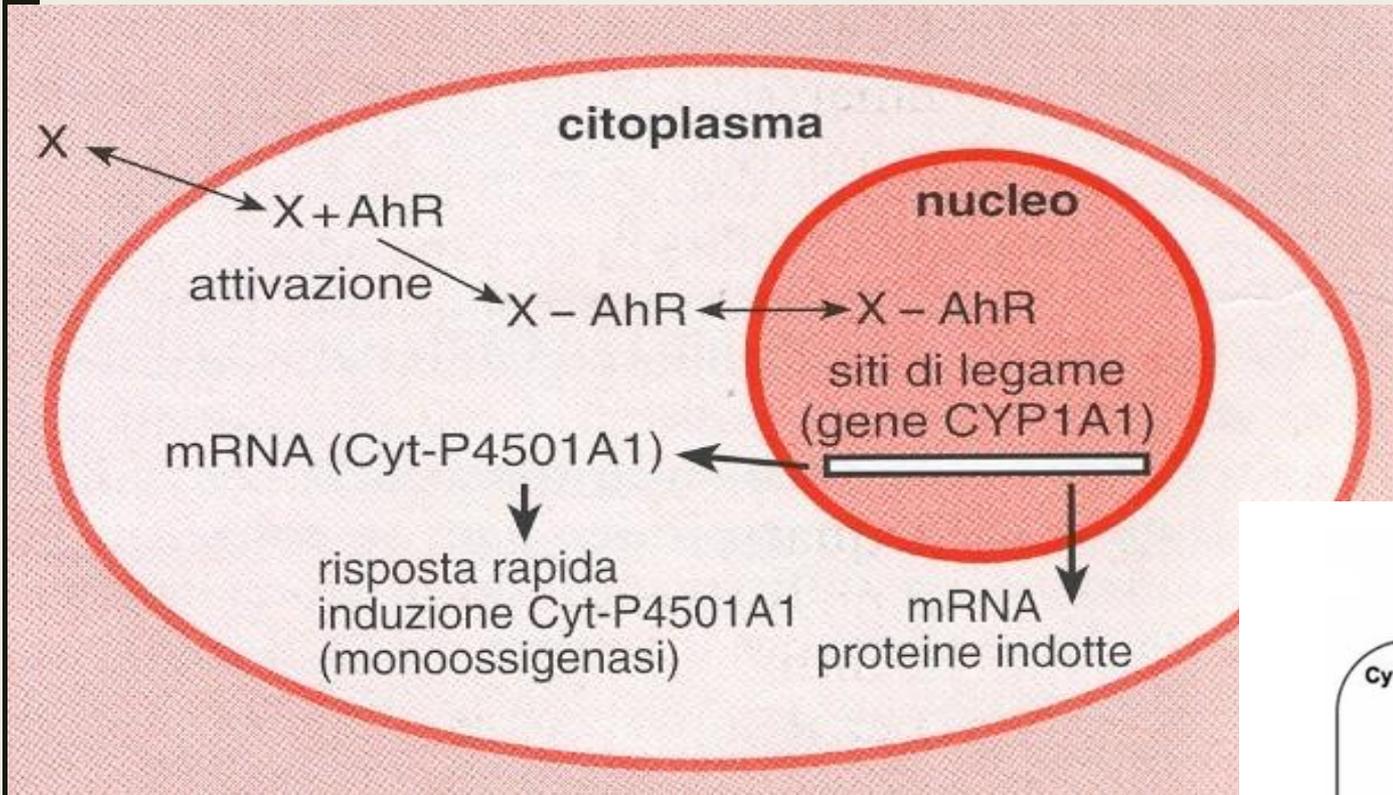
FATTORE DI TOSSICITA' DEI DIBENZOFURANI

	I-TEF	WHO-TEF	
2,3,7,8-T₄CDF	0.1	0.1	
1,2,3,7,8-P₅CDF	0.05	0.03	
2,3,4,7,8-P₅CDF	0.5	0.3	
1,2,3,4,6,7,8-H₇CDF	0.01	0.01	
O₈CDF		0.001	0.0003

TOSSICOCINETICA DELLE DIOSSINE



Meccanismo d'azione



=Agenti intercalanti del DNA

Recettore **Ahr**: modula e regola numerosi geni

il legame tra le diossine e il recettore Ah è il passo chiave per il successivo innescarsi degli effetti tossici

Protooncogeni

Geni che codificano enzimi per metabolismo xenobioti, citochine e recettori per citochine

EFFETTI DELLA DIOSSINA

- Induzione enzimatica (Isoforme CYP1A1-2)**
- Induzione della moltiplicazione cellulare**
- Inibizione dell'apoptosi**
- Interazione con fattori di crescita**
- Carenza di vitamina A**
- Deplezione epatica dell'ormone tiroideo T4**
- Effetti simil-estrogenici**

Effetti cronici delle diossine

- Cancerogenesi : dimostrata sperimentalmente
- Mutagenesi : potenzialmente mutagena
- Teratogenesi : dimostrata sperimentalmente



**LE DIOSSINE COME INQUINANTI AMBIENTALI
SVOLGONO UN RUOLO DI PRIMO PIANO NEL
DETERMINARE DISTURBI SUL SISTEMA ENDOCRINO
ED IN PARTICOLARE SULLA SFERA RIPRODUTTIVA**

Occurrence of NDL-PCBs, DL-PCBs, PCDD/Fs, lead and cadmium in feed and in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) farmed in Italy

2014 Food Additives & Contaminants: Part A 31, 2, 276-287

Teresa Cirillo, Evelina Fasano, Francesco Esposito, **Michele Amorena**, Renata Amodio Cocchieri

The safety of farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) is correlated with the quality of the production process. Polychlorinated biphenyls (PCBs), dioxins (polychlorinated dibenzodioxins and furans–PCDD/Fs), and heavy metals such as lead and cadmium were investigated because they can represent a risk for the consumer. The levels of these compounds in water, feed and specimens of trout farmed with two different feeds (A and B) were assessed. Their accumulation in muscle of A and B trout was evaluated and their ...

The results showed a widespread contamination in feed and in the examined trout, although lower than the European Union limits.

Tab.2 NDL-PCBs (6 IUPAC congeners), DL-PCBs, PCDD/PCDFs mean concentrations in the “A” and “B” feeds.

Compounds	“A”Feed	“B”Feed
	Mean ± sd	Mean ± sd
Σ NDL-PCB (ng/g)	29.33 ± 3.03	5.80±0.22
Σ DL-PCB (pg/g)	2636.50 ± 299.80	558.63 ± 71,71
DL-PCBWHO Teq (UB) (pg/g)	1.497 ± 0.23	0,301 ± 0,05
PCDD/PCDF WHO Teq (pg/g)	1,155 ± 0,16	0,428 ± 0,10

Table 3. NDL-PCBs (6 IUPAC congeners), DL-PCBs, PCDD/PCDFs mean concentrations in muscle of trout fed by “A” and “B” diets at different periods of sampling.

Compounds	“A” Group		“B” Group	
	May 2010	July 2010	May 2010	July 2010
	Mean ± sd	Mean ± sd	Mean ± sd	Mean ± sd
Σ NDL-PCB (ng/g ww)	1.90 ± 0.47	2.66 ± 0.46	2.73 ± 0.36	3.59 ± 0.74
Σ DL-PCB (pg/g ww)	64.18 ± 9.20	74.79 ± 10.08	98.60± 18.7	108.75±14.48
DL-PCBWHO Teq (UB) (pg/g)	0.015 ± 0.009	0.025±0.007	0.022 ± 0.009	0.031±0.01
PCDD/PCDF WHO Teq (pg/g)	0.312 ± 0.085	0.350 ± 0.107	0.301 ± 0.089	0.356±0.11
Σ Dioxins and DL-PCB (pg/g) (OMSPCDD/FPCBTEQ)	0.327 ± 0.077	0.375 ± 0.107	0.357.±0,097	0.387±0.11

Serum levels of polychlorinated dibenzo-p-dioxins,
polychlorinated dibenzofurans and polychlorinated biphenyls
in a population living in the Naples area, southern Italy

2014 Chemosphere 94, 62-69

Mauro Esposito, Francesco Paolo Serpe, Gianfranco Diletti, Giovanni Messina, Giampiero Scortichini, Cinzia La Rocca, Loredana Baldi, **Michele Amorena**, Marcellino Monda

The objective of this study was to estimate the levels of polychlorinated dibenzo-p-dioxins (PCDDs), polychlorinated dibenzofurans (PCDFs) and polychlorinated biphenyls (DL-PCBs and NDL-PCBs) in blood serum obtained **from non-occupationally exposed volunteers living in the Naples area** (Campania Region, southern Italy).

The samples were taken from two geographical zones: one was an urban area of Naples and its surroundings and the other was located in an area deemed to be at high environmental risk.

Total mean concentrations of these persistent pollutants proved to be in the range 1.43–17.38 pg WHO-TEQ 1998 g⁻¹ lipid for PCDD/Fs, and 0.98–25.45 pg WHO-TEQ 1998 g⁻¹ lipid for DL-PCBs. NDL-PCBs were in the range 316.57–482.90 ng g⁻¹ lipid.

No significant differences were observed between women and men, nor between donors living in the two different areas.

The mean levels of PCDD/Fs and PCBs in the population living in the Naples area were lower than those observed in some studies of populations living in exposed areas (near incineration plants or industrial sites) and urban or rural areas.

Predicting dioxin-like PCBs soil contamination levels using milk of grazing animal as indicator

(2012) Chemosphere 89, 8, 964-969

Monia Perugini, Esteban Gabriel Herrera Nuñez, Loredana Baldi, Mauro Esposito, Francesco Paolo Serpe, **Michele Amorena**

Dioxin-like PCBs (dl-PCBs) are ubiquitous persistent organic pollutants of recognized negative effects on human health. Assessing highly polluted areas should be an important public health issue. This study proposes to use the **milk of grazing animals as a bioindicator of dl-PCB contamination in the environment**. The hypothesis is that milk concentration of dl-PCBs are related to soil concentrations of these compounds, and that soils are generally reflective of a larger environmental issue of dl-PCB contamination.

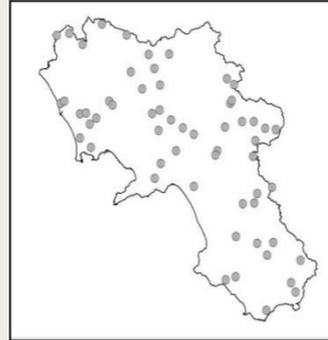
According to these results the **sheep's milk** can be considered the best bioindicator of dl-PCBs contamination among the three species. The results of this project evidence the potentialities of the proposed approach to assess bioindicator performance in a spatial predictive model.

Materiali e metodi

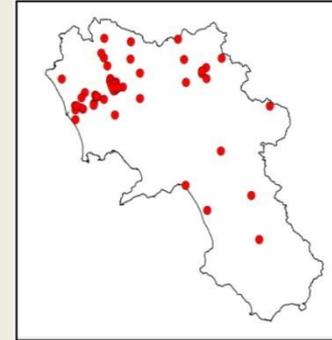
Siti di campionamento



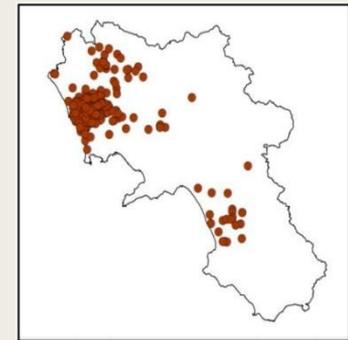
Dati latte 2008



Latte ovino



Latte bovino



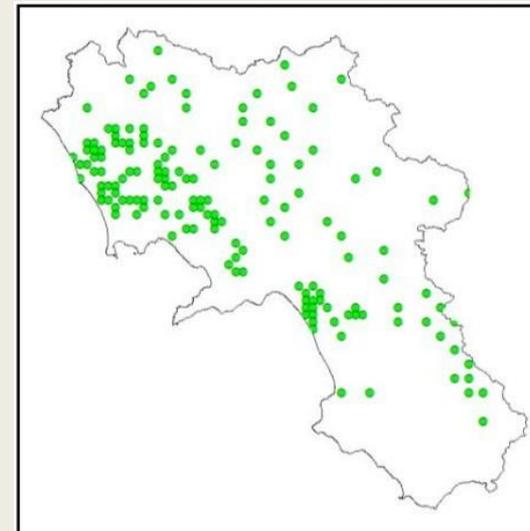
Latte di bufala



Siti di campionamento



Dati suolo 2008



Materiali e metodi

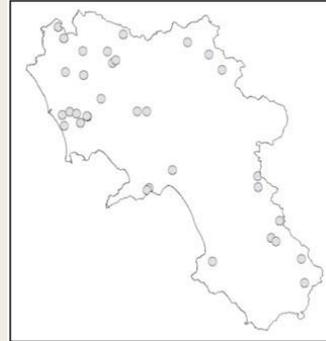
Siti di campionamento



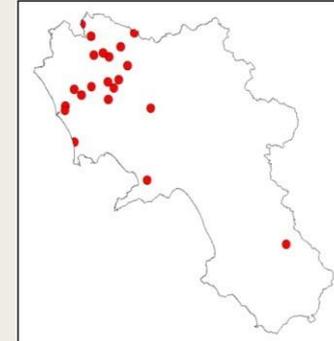
Dati latte 2009



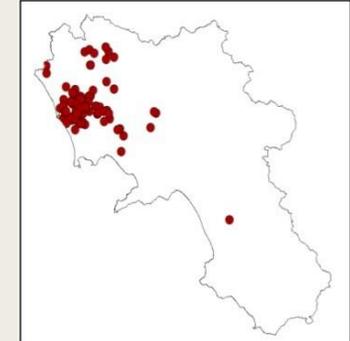
Dati suolo 2009



Latte ovino

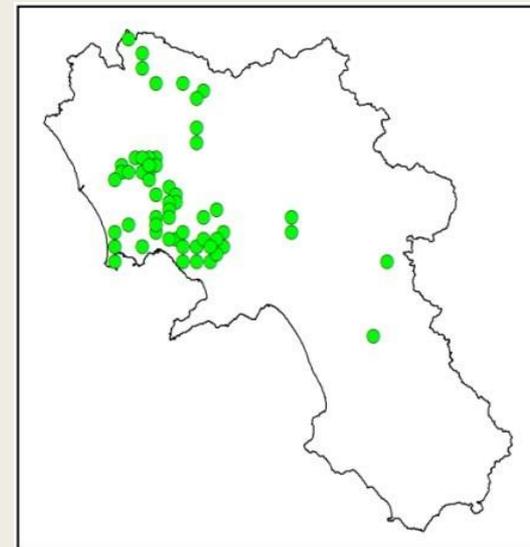


Latte bovino

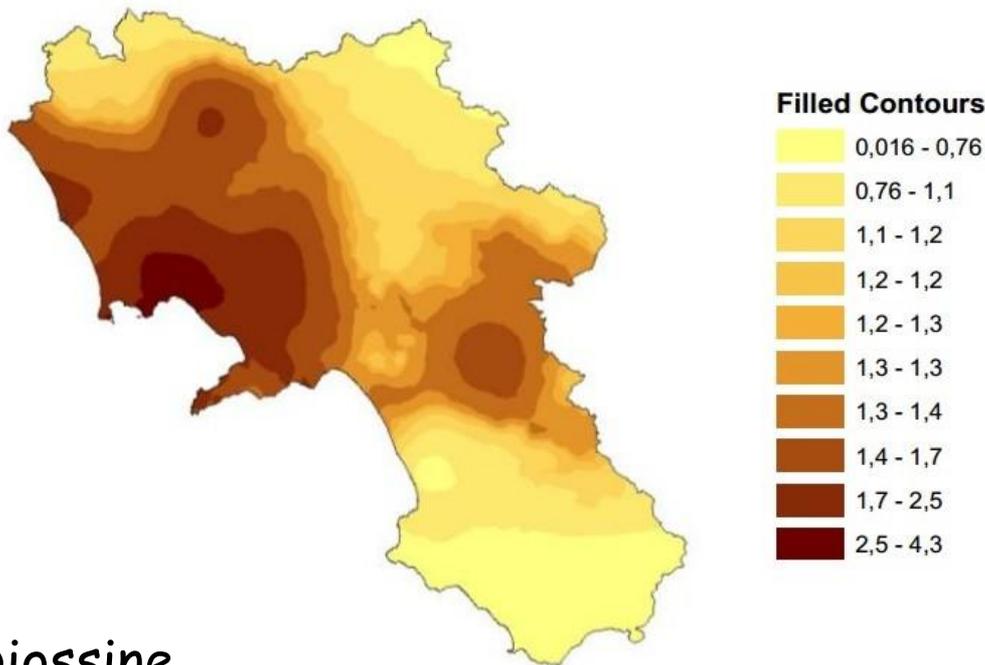
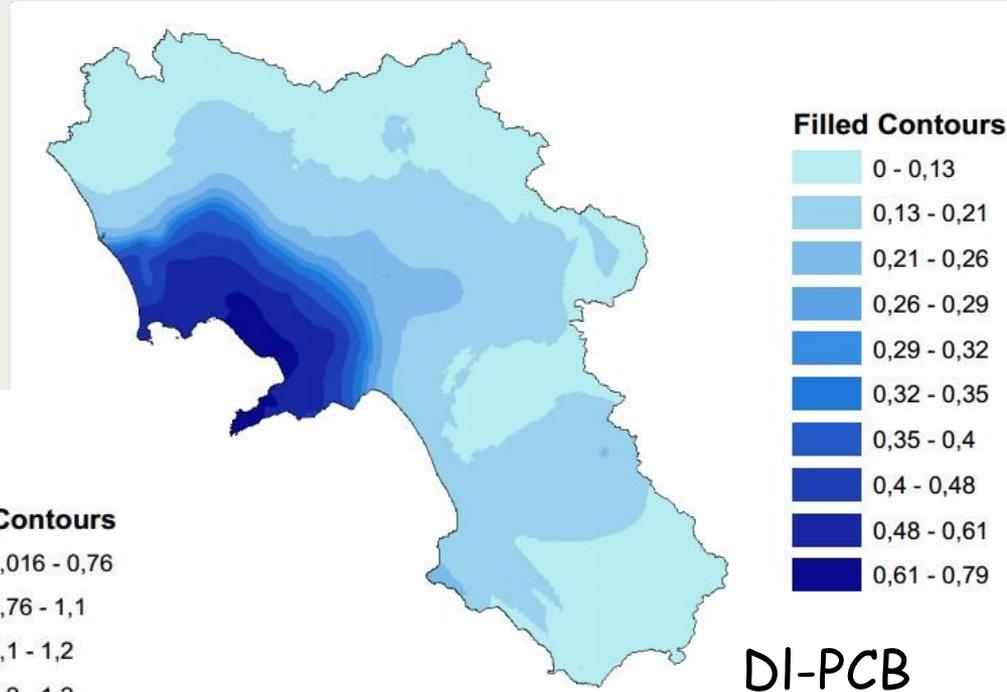


Latte di bufala

Siti di campionamento



Analisi spaziale della contaminazione del suolo anno 2008



Diossine

Analisi della regressione per i dl-PCB

Latte di bufala

Variable	Coefficient	StdError	t-Statistic	Probability	Robust_SE	Robust_t	Robust_Pr
Intercept	-0,689171	0,115650	-5,959094	0,000000*	0,135833	-5,073651	0,000001*
RASTERVALU	9,215068	0,437517	21,062191	0,000000*	0,679234	13,566850	0,000000*

OLS Diagnostics	
Number of Observations:	309
Degrees of Freedom:	307
Multiple R-Squared [2]:	0,591003
Adjusted R-Squared [2]:	0,589670
Joint F-Statistic [3]:	443,615898
Joint Wald Statistic [4]:	184,059430
Koenker (BP) Statistic [5]:	42,918939
Jarque-Bera Statistic [6]:	1060,408457

R² = 59%

Analisi della regressione per le diossine

Latte di bufala

Variable	Coefficient	StdError	t-Statistic	Probability	Robust_SE	Robust_t	Robust_Pr
Intercept	-4,208625	1,126684	-3,735407	0,000232*	0,844726	-4,982238	0,000002*
RASTERVALU	4,339070	0,694040	6,251899	0,000000*	0,583336	7,438368	0,000000*

OLS Diagnostics	
Number of Observations:	327
Degrees of Freedom:	325
Multiple R-Squared [2]:	0,107354
Adjusted R-Squared [2]:	0,104608
Joint F-Statistic [3]:	39,086245
Joint Wald Statistic [4]:	55,329312
Koenker (BP) Statistic [5]:	8,725068
Jarque-Bera Statistic [6]:	1884,336187

R² = 10%

Latte bovino

Variable	Coefficient	StdError	t-Statistic	Probability	Robust_SE	Robust_t	Robust_Pr
Intercept	-0,623217	0,255646	-2,437815	0,018301*	0,403921	-1,542917	0,129036
RASTERVALU	11,007076	1,288996	8,539260	0,000000*	2,271327	4,846098	0,000013*

OLS Diagnostics	
Number of Observations:	53
Degrees of Freedom:	51
Multiple R-Squared [2]:	0,588441
Adjusted R-Squared [2]:	0,580371
Joint F-Statistic [3]:	72,918969
Joint Wald Statistic [4]:	23,484667
Koenker (BP) Statistic [5]:	6,817646
Jarque-Bera Statistic [6]:	9,698535

R² = 58%

Latte bovino

Variable	Coefficient	StdError	t-Statistic	Probability	Robust_SE	Robust_t	Robust_Pr
Intercept	-4,148508	1,295015	-3,203443	0,002793*	1,432898	-2,895187	0,006325*
RASTERVALU	4,003034	0,884060	4,528011	0,000060*	1,134268	3,529180	0,001134*

OLS Diagnostics	
Number of Observations:	39
Degrees of Freedom:	37
Multiple R-Squared [2]:	0,356554
Adjusted R-Squared [2]:	0,339164
Joint F-Statistic [3]:	20,502884
Joint Wald Statistic [4]:	12,455112
Koenker (BP) Statistic [5]:	6,028930
Jarque-Bera Statistic [6]:	74,330890

R² = 34%

Latte ovino

Variable	Coefficient	StdError	t-Statistic	Probability	Robust_SE	Robust_t	Robust_Pr
Intercept	-0,698052	0,279215	-2,500051	0,017738*	0,327793	-2,129552	0,040999*
RASTERVALU	9,573279	1,170157	8,181196	0,000000*	1,992212	4,805351	0,000034*

OLS Diagnostics	
Number of Observations:	34
Degrees of Freedom:	32
Multiple R-Squared [2]:	0,676545
Adjusted R-Squared [2]:	0,666437
Joint F-Statistic [3]:	66,931960
Joint Wald Statistic [4]:	23,091401
Koenker (BP) Statistic [5]:	18,581626
Jarque-Bera Statistic [6]:	1,712150

R² = 67%

Latte ovino

Variable	Coefficient	StdError	t-Statistic	Probability	Robust_SE	Robust_t	Robust_Pr
Intercept	-2,813005	0,941992	-2,986229	0,004332*	1,262811	-2,227574	0,030348*
RASTERVALU	3,368283	0,715806	4,705578	0,000020*	1,144170	2,943866	0,004871*

OLS Diagnostics	
Number of Observations:	53
Degrees of Freedom:	51
Multiple R-Squared [2]:	0,302731
Adjusted R-Squared [2]:	0,289059
Joint F-Statistic [3]:	22,142463
Joint Wald Statistic [4]:	8,666349
Koenker (BP) Statistic [5]:	6,551560
Jarque-Bera Statistic [6]:	185,219497

R² = 29%

Sheep farming and the impact of environment on food safety

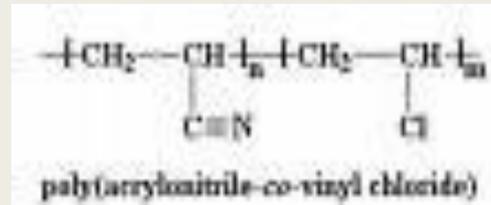
(2016) Small Ruminant Research 135, 66-74

Giampiero Scortichini, **M Amorena**, Gianfranco Brambilla, R Ceci, G Chessa, G Diletti, M Esposito, V Esposito, V Nardelli

Sheep flocks are sensitive to the top soil intake, via their grazing activity and the ingestion of soil particles incorporated into the hay especially during harvesting operations. Such intake is estimated between 2 and 20% of the dry matter from grass and hay and may vary accounting for seasonal and geographical differences in the quality of pastures. The persistent organic pollutants accumulated in soil such as polychlorodibenzo-p-dioxins and-furans (PCDD/Fs), and dioxin-like polychlorinated biphenyls (DL-PCBs), may transfer ... the authors consider the quality of soils and the toxicokinetic factors that allow the **transfer of the contamination to milk and the edible tissues in sheep**. The wide range of PCDD/F concentration reported in milk (0.05–30 pg WHO1998-TEQ/g fat), meat (0.18–4.9 pg WHO1998-TEQ/g fat) and liver (4.8–161 pg WHO1998-TEQ/g fat) from extensively reared flocks in areas of European countries under different industrial and urban pressures, indicate the opportunity to adopt risk management options based on environmental quality standards and good agriculture practices, able to support the access to a **safe and nutritious food**. With respect to the PCDD/F and DL-PCB intake, **liver represents the most contaminated food item**, for its ability to bind such lipophilic contaminants irrespective of its lipid content. Case-studies from the Mediterranean area are illustrated, to support the environment and health approach also in terms of sustainability of family farms production.

Ritardanti di fiamma bromurati

- ▶ I polibromobifenili (**PBB**) e i polibromodifenileteri (**PBDE**) sono classi di sostanze organiche polibromurate impiegate come ritardanti di fiamma nei materiali polimerici.
- ▶ Come struttura e caratteristiche risultano essere molto simili a diossine e PCB, con le quali hanno in comune la tossicità e la stabilità chimica.



- ▶ Trovano applicazione in diversi settori industriali: tessile, elettronico e nella produzione di imballaggi in plastica.

Caratterizzazione del pericolo (PBDEs)

4184 lavori riportati su pubmed, 1080 tossicità

Serum PBDEs and age at menarche in adolescent girls: analysis of the National Health and Nutrition Examination Survey 2003-2004.

Chen A, Chung E, DeFranco EA, Pinney SM, Dietrich KN.
Environ Res. 2011 Aug;111(6):831-7. Epub 2011 Jun 12.

Effect of brominated flame retardant BDE-47 on androgen production of adult rat Leydig cells.

Zhao Y, Ao H, Chen L, Sottas CM, Ge RS, Zhang Y.
Toxicol Lett. 2011 Aug 28;205(2):209-14

Embryonic exposure to the **polybrominated diphenyl** ether mixture, DE-71, affects testes and circulating testosterone concentrations in adult American kestrels (*Falco sparverius*).

Marteinson SC, Kimmins S, Bird DM, Shutt JL, Letcher RJ, Ritchie IJ, Fernie KJ.
Toxicol Sci. 2011 May;121(1):168-76.

Effects of BDE-85 on the oxidative status and nerve conduction in rodents.

Vagula MC, Kubeldis N, Nelatury CF.
Int J Toxicol. 2011 Aug;30(4):428-34.

In vitro neurotoxicity data in human risk assessment of **polybrominated diphenyl ethers (PBDEs)**: Overview and perspectives.

Verner MA, Bouchard M, Fritsche E, Charbonneau M, Haddad S.
Toxicol In Vitro. 2011 Jun 16

PCB-47, PBDE-47, and 6-OH-PBDE-47 differentially modulate human GABAA and **alpha4beta2 nicotinic acetylcholine receptors**.

Hendriks HS, Antunes Fernandes EC, Bergman A, van den Berg M,
Westerink RH.
Toxicol Sci. 2010 Dec;118(2):635-42.

Elevated PBDE levels in pet cats: sentinels for humans?

Dye JA, Venier M, Zhu L, Ward CR, Hites RA, Birnbaum LS.

Environ Sci Technol. 2007 Sep 15;41(18):6350-6.

PDBEs

- ▶ Caratterizzazione del pericolo
- ▶ **Valutazione dell'esposizione** (dati analitici - disamina bibliografica)

Valutazione dell'esposizione

Determination of levels of persistent organic pollutants (PCDD/Fs, PBDD/Fs, PBDEs, PCBs, and PBBs) in atmosphere near a municipal solid waste incinerator.

Wang MS, Chen SJ, Huang KL, Lai YC, Chang-Chien GP, Tsai JH, Lin WY, Chang KC, Lee JT. Chemosphere. 2010 Aug;80(10):1220-6

A global review of **polybrominated diphenyl** ether flame retardant contamination in birds.

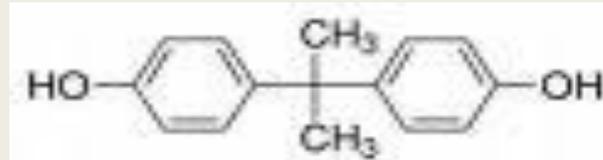
Chen D, Hale RC. Environ Int. 2010 Oct;36(7):800-11.

Levels and congener profiles of PCDD/Fs, PCBs and PBDEs in seafood from China.

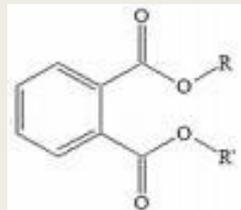
Shen H, Yu C, Ying Y, Zhao Y, Wu Y, Han J, Xu Q. Chemosphere. 2009 Nov;77(9):1206-11

Bisfenolo A e ftalati

- ▶ Il **bisfenolo A (BPA)** è un composto organico con due gruppi fenolo. E' utilizzato nella sintesi di plastiche ed additivi plastici, in particolare nella produzione di policarbonato (materiale plastico usato per biberon, stoviglie in plastica, bottiglie, contenitori per alimenti).



- ▶ Gli ftalati sono esteri dell'acido ftalico e rappresentano una famiglia di composti chimici usati nell'industria delle materie plastiche come agenti plastificanti, ovvero come sostanze aggiunte al polimero per *migliorarne la flessibilità e la modellabilità*. Vengono impiegati principalmente nel **cloruro di polivinile (PVC)**, così come nella formulazione di cosmetici come solventi, denaturanti o agenti filmogeni.

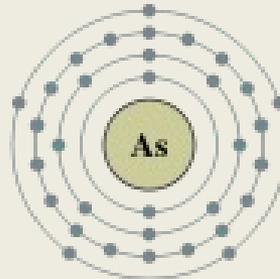


Arsenico

- ▶ Si tratta di un semimetallo. L'arsenico puro non è velenoso, lo sono invece tutti i suoi composti che trovano impiego come pesticidi, erbicidi ed insetticidi.

33: Arsenic

2,8,18,5



- ▶ Trova applicazione come:
 - **pesticidi** per alberi da frutto (arseniato di piombo);
 - **trattamenti del legno** utilizzato per la costruzione di edifici (arsenocromato di rame);
 - **insetticidi e veleni agricoli**;
 - **semiconduttore** (arseniuro di gallio).

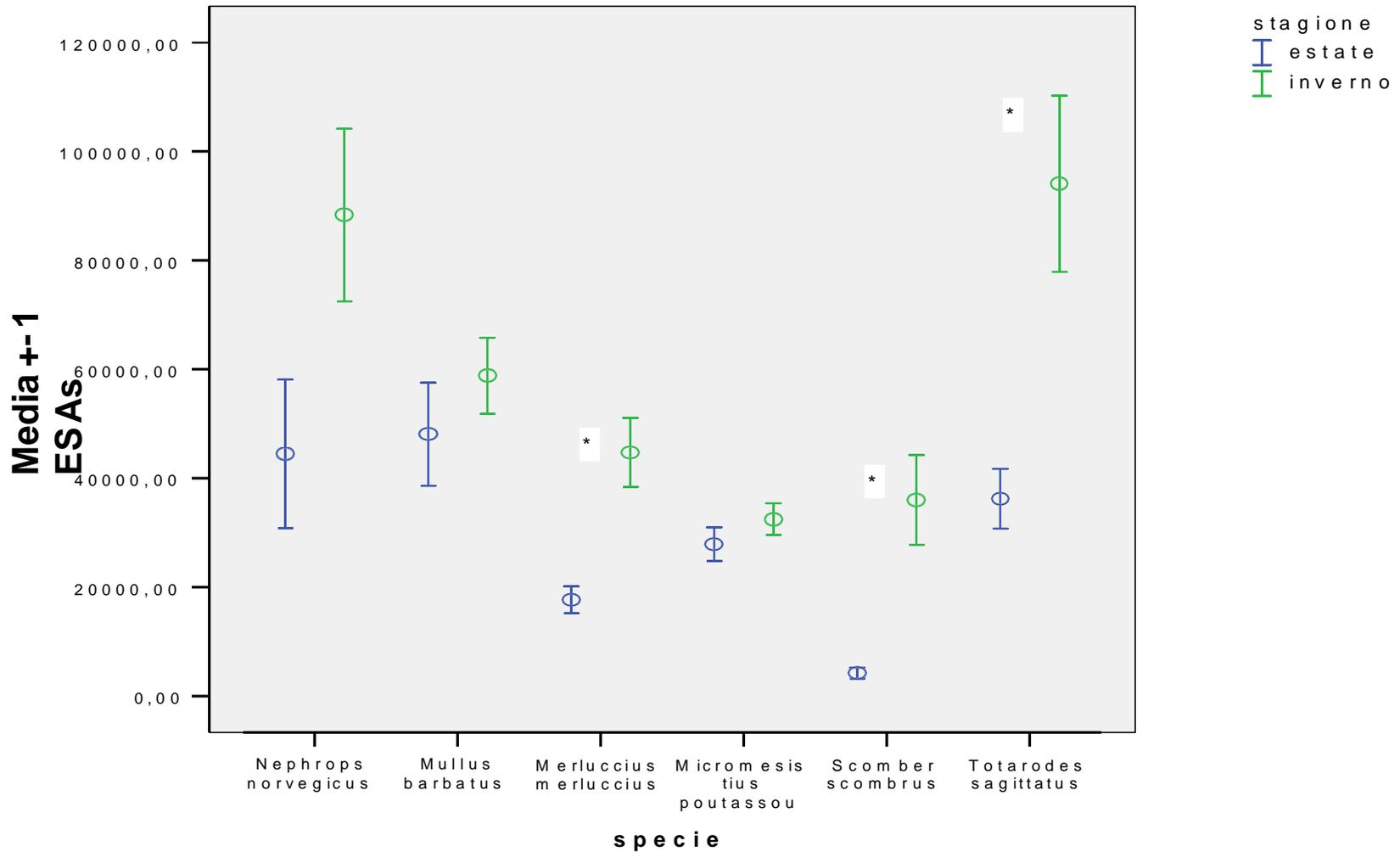
- ▶ **Metallo non normato dalla vigente normativa (Reg.CE 1881/2006), ma dotato comunque di elevata tossicità.**
- ▶ Tossicità legata alla forma inorganica.
- ▶ Fonti: pesticidi, insetticidi e veleni agricoli; semiconduttori in circuiti integrati.
- ▶ Fonte alimentare rappresentata da prodotti ittici e frutti di mare che assorbono arsenico dalle acque in cui vivono.
- ▶ Tossicità: alterazioni del tratto digerente, neoplasie cutanee e del tratto urinario.

Investigation of total arsenic in fish from the Central Adriatic Sea (Italy) in relation to level found in fishermen's hair

Zaccaroni A., Perugini M., D'Orazio N., Manera M., Giannella B., Zucchini M., Giammarino A., Riccioni G., Ficoneri C., Naccari C., Amorena M.

Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics
(2006) 29 (suppl. 1) 178-79

Medie ed errore standard delle concentrazioni di As ($\mu\text{g}/\text{kg}$) in funzione della specie e della stagione



Medie ed errore standard delle concentrazioni di As ($\mu\text{g}/\text{kg}$) nelle specie ittiche analizzate e nei capelli di pescatori

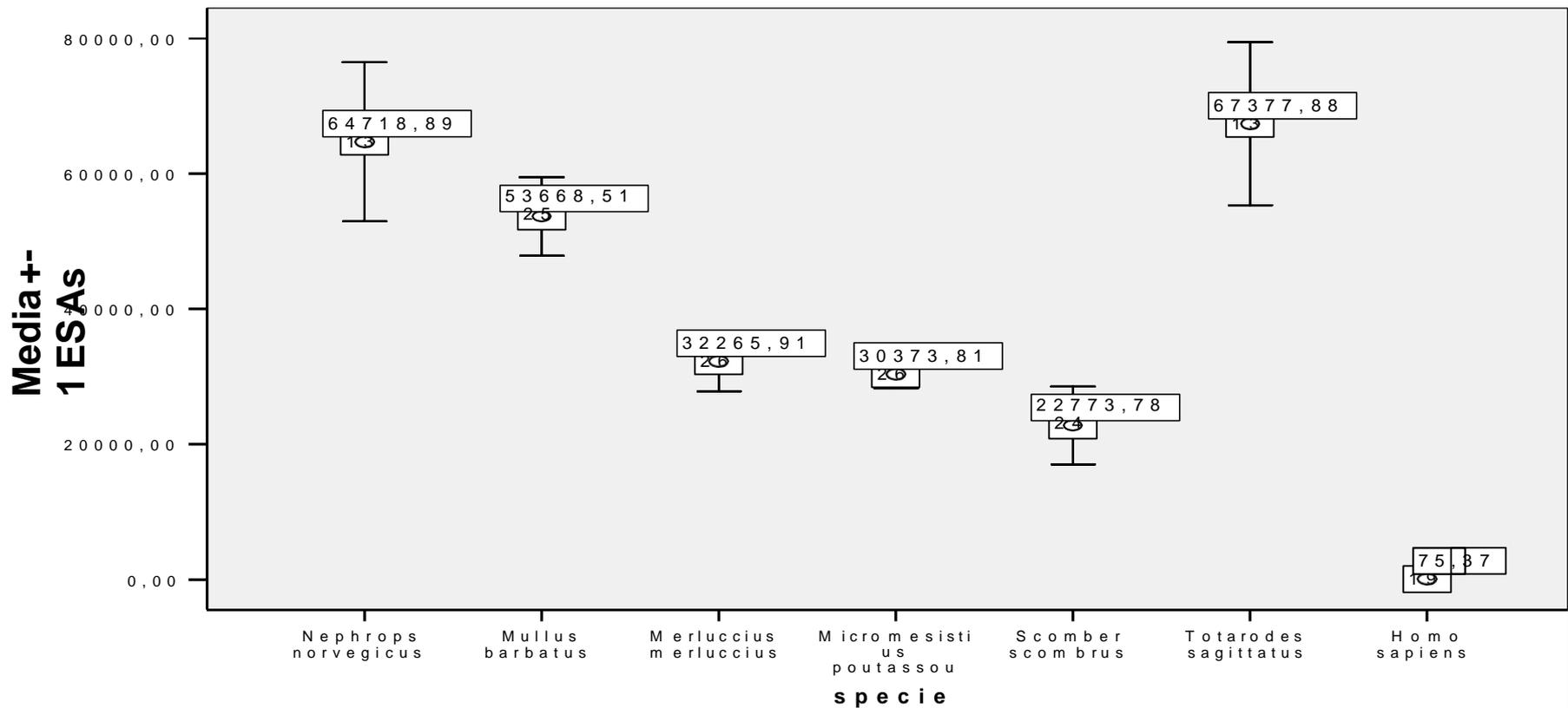
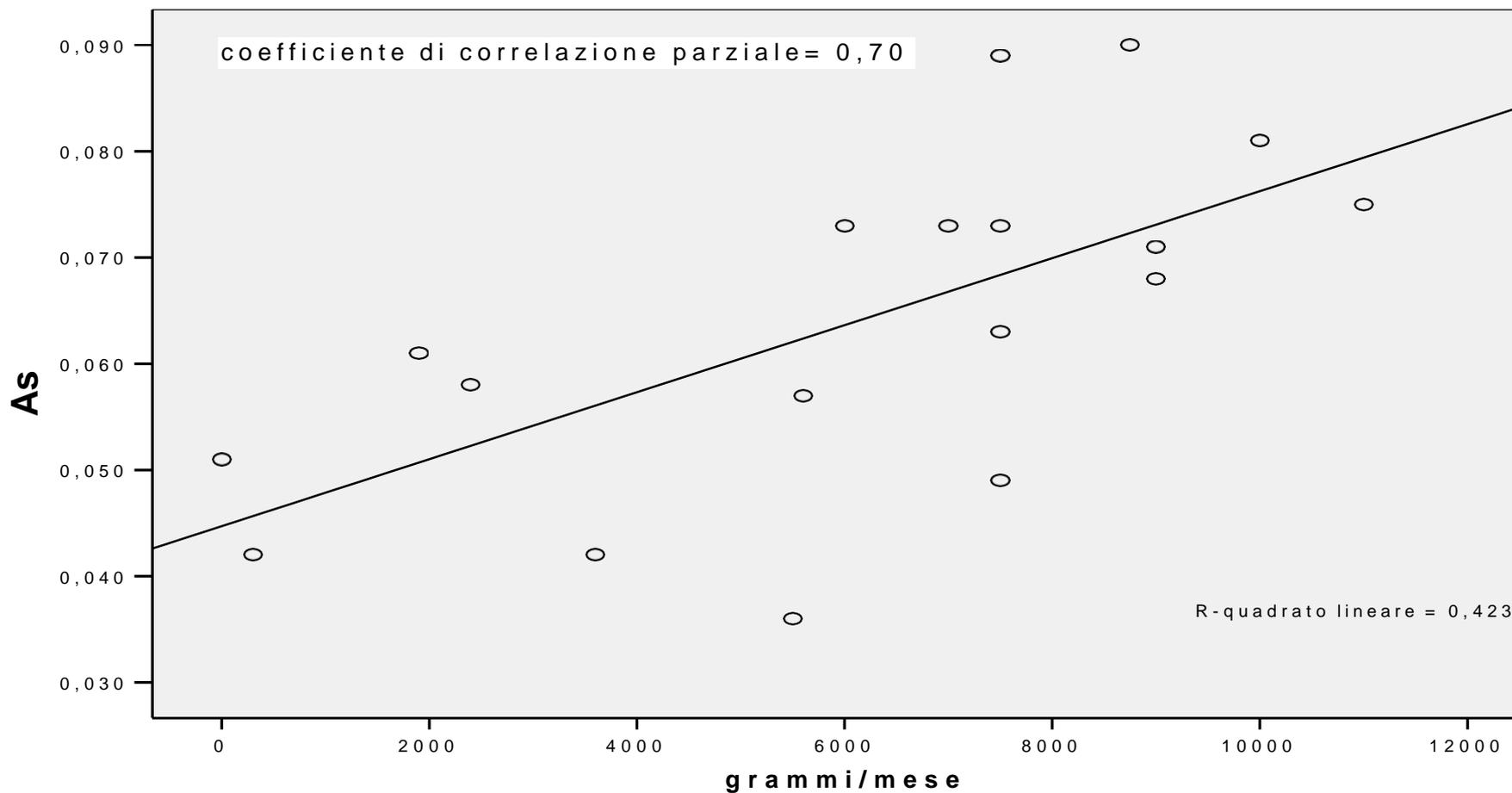


Grafico di dispersione delle concentrazioni di As nei capelli di pescatori in relazione al consumo mensile di pesce



VALUTAZIONE DI RISCHIO

Possiamo considerare che l'arsenico inorganico e ed i composti organici dell'arsenico diversi dall'AB rappresentano al massimo l'1% dell'arsenico totale.

Ipotizzando, cautelativamente, che tutti i composti organici dell'arsenico diversi dalla AB, siano cancerogeni e con la stessa potenza dell'arsenico inorganico, possiamo calcolare che l'assunzione **di arsenico cancerogeno tramite consumo di pesce sia pari all'1% dell'arsenico totale determinato nell'alimento.**

ESPOSIZIONE AD ARSENICO INORGANICO : Prodotti Ittici

Concentrazione mg/kg 45 As totale As inorganico 1%	Consumo g/die	Esposizione $\mu\text{g}/\text{die}$	Esposizione $\mu\text{g}/\text{kg p.c.}/\text{die}$	Indice di rischio
0.45	32	14.4	0.24	0.112
0.45	130	58.5	0.975	0.455

WHO (1989) TDI = **2,14 $\mu\text{g}/\text{kg p.c.}/\text{die}$**

EPA (2001) = 0,3 $\mu\text{g}/\text{kg p.c.}/\text{die}$

Quando si analizza la presenza di arsenico negli alimenti, è fondamentale distinguere tra:

- Arsenico inorganico (molto tossico, cancerogeno).
- Arsenico organico come arsenobetaina (AB) (non tossico).
- In pesci e crostacei, quasi tutto l'arsenico è sotto forma di AB, quindi non rappresenta un pericolo.

“...Arsenobetaine, the major form of arsenic in most seafood and fish, is considered to be of no toxicological concern because it is not metabolized and is excreted intact by humans....”

2014, Encyclopedia of Food Safety, S.S.-H. Tao, P.M. Bolger

Mercurio

Il mercurio è l'unico metallo che si trova allo stato liquido a temperatura ambiente, per questo motivo è molto volatile.

Il mercurio liquido non è molto tossico mentre lo sono i suoi vapori.

La principale fonte di immissione nell'ambiente è l'emissione gassosa proveniente dalla crosta terrestre.

- Le emissioni antropogeniche provengono dalle attività industriali ma anche dalla combustione del combustibile fossile che può contenerne fino a 1 mg/kg.

- La tossicità del mercurio dipende dalla sua forma chimica. Metilmercurio: si combina facilmente con anioni come il cloruro (Cl^-), l'idrossido (OH^-) e il nitrato (NO_3^-). Ha affinità molto elevata per anioni contenenti zolfo, in particolare per il gruppo $-\text{SH}$ (amminoacido cisteina); forma quindi legami covalenti con le proteine contenenti cisteina. Molto liposolubile attraversa le membrane biologiche e quindi anche la cute

Mercurio elementare (Hg^0): Facilmente volatile nell'atmosfera, non molto solubile in acqua, si ritrova nella pioggia. Rimosso dall'atmosfera viene convertito in Hg^{2+} (ossidazione)

Sali di mercurio: come cloruro mercurico (HgCl_2) penetrano lentamente attraverso la cute, formano depositi sotto lo strato corneo

Forma	Simbolo	Stato	Tossicità	Via principale
Mercurio elementare	Hg^0	metallico, volatile	Tossico per inalazione	Polmoni
Mercurio bivalente	Hg^{2+} (HgII)	ione inorganico	Tossico per ingestione	Apparato digerente
Metilmercurio	CH_3Hg^+	organico	Altamente tossico e bioaccumulabile	Catena alimentare

Mercurio

Il mercurio metallico presente nell'atmosfera rappresenta la principale fonte di trasporto del mercurio. Questo viene ossidato a **Hg⁺⁺** e successivamente metilato o trasformato in altri composti organomercuriali.

Il metil mercurio è di notevole importanza dal punto di vista tossicologico in quanto è molto tossico.

Il **metil mercurio** tende ad accumularsi nei pesci ed in particolare nei pesci predatori che sono all'apice della catena alimentare acquatica.

In Italia è stato riscontrato un contenuto di mercurio nell'aria di zone rurali compreso tra 2 e 4 ng/m³, mentre in aree urbane era di 10 ng/m³. In Europa sono stati riscontrati livelli di mercurio di 0.001-6 ng/m³ in aree remote, di 0.1-5 ng/m³ in aree urbane e di 0.5-20 ng/m³ in aree industriali.

La tossicità del mercurio dipende dalla forma in cui si trova.

1. Il **mercurio metallico** allo stato di vapore viene assunto per via inalatoria e per le sue proprietà lipofile diffonde velocemente attraverso la membrana alveolare del rene, nei globuli rossi e nel sistema nervoso dove avviene la biotrasformazione in metil mercurio.

2. Il **metil mercurio** è la forma più tossica del mercurio; basta un'esposizione di breve durata perché insorgano gli effetti tossici del mercurio. L'azione tossica è dovuta *all'affinità del mercurio per diversi sistemi enzimatici*, dove si lega ai gruppi **-SH** delle proteine, determinando la perdita della loro funzionalità.

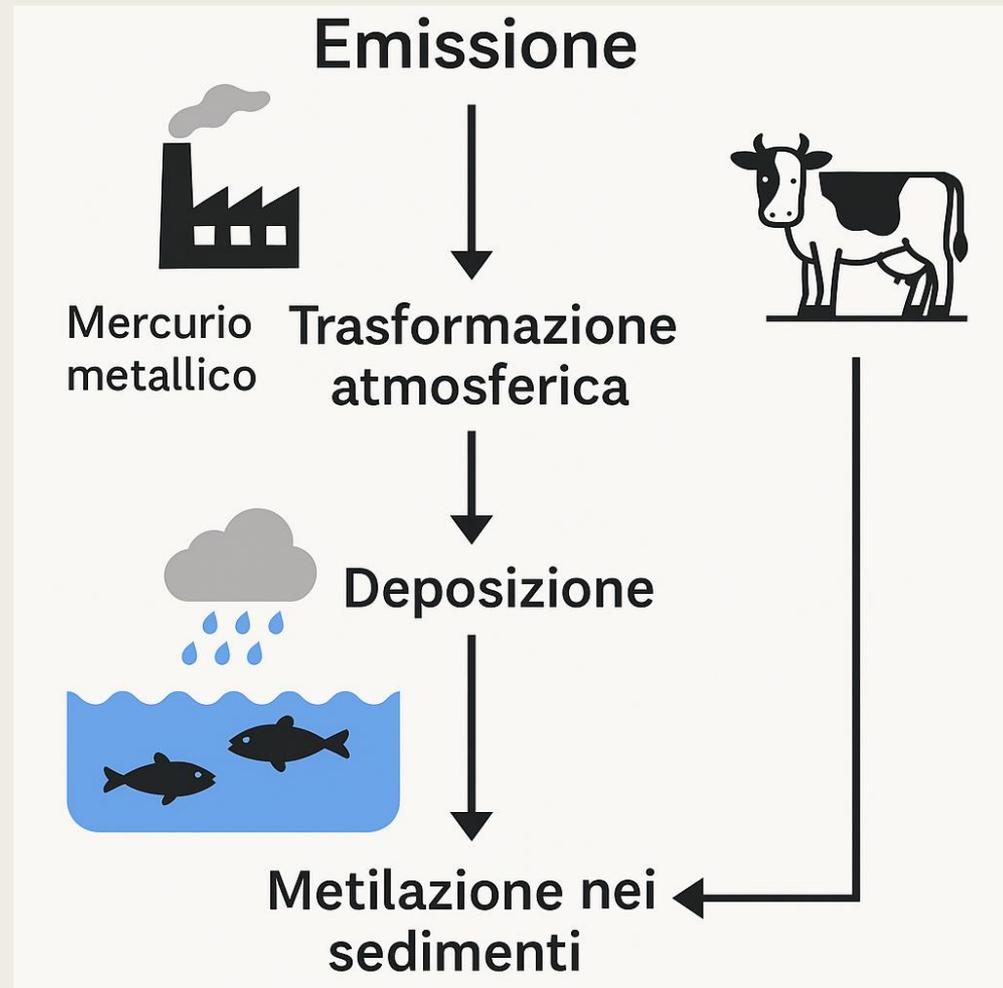
Il mercurio metallico viene rilasciato nell'ambiente da fonti naturali (es. vulcani) e attività umane (es. miniere, combustione di carbone). Nell'atmosfera, il mercurio metallico può ossidarsi a forme inorganiche più reattive (Hg^{2+}).

Il mercurio atmosferico cade sulla terra o nei mari attraverso pioggia o gravità.

Batteri anaerobi nei laghi, fiumi e oceani trasformano il mercurio inorganico in metilmercurio (CH_3Hg^+), la forma più tossica.

Il metilmercurio si accumula negli organismi acquatici (come pesci) e aumenta lungo la catena alimentare.

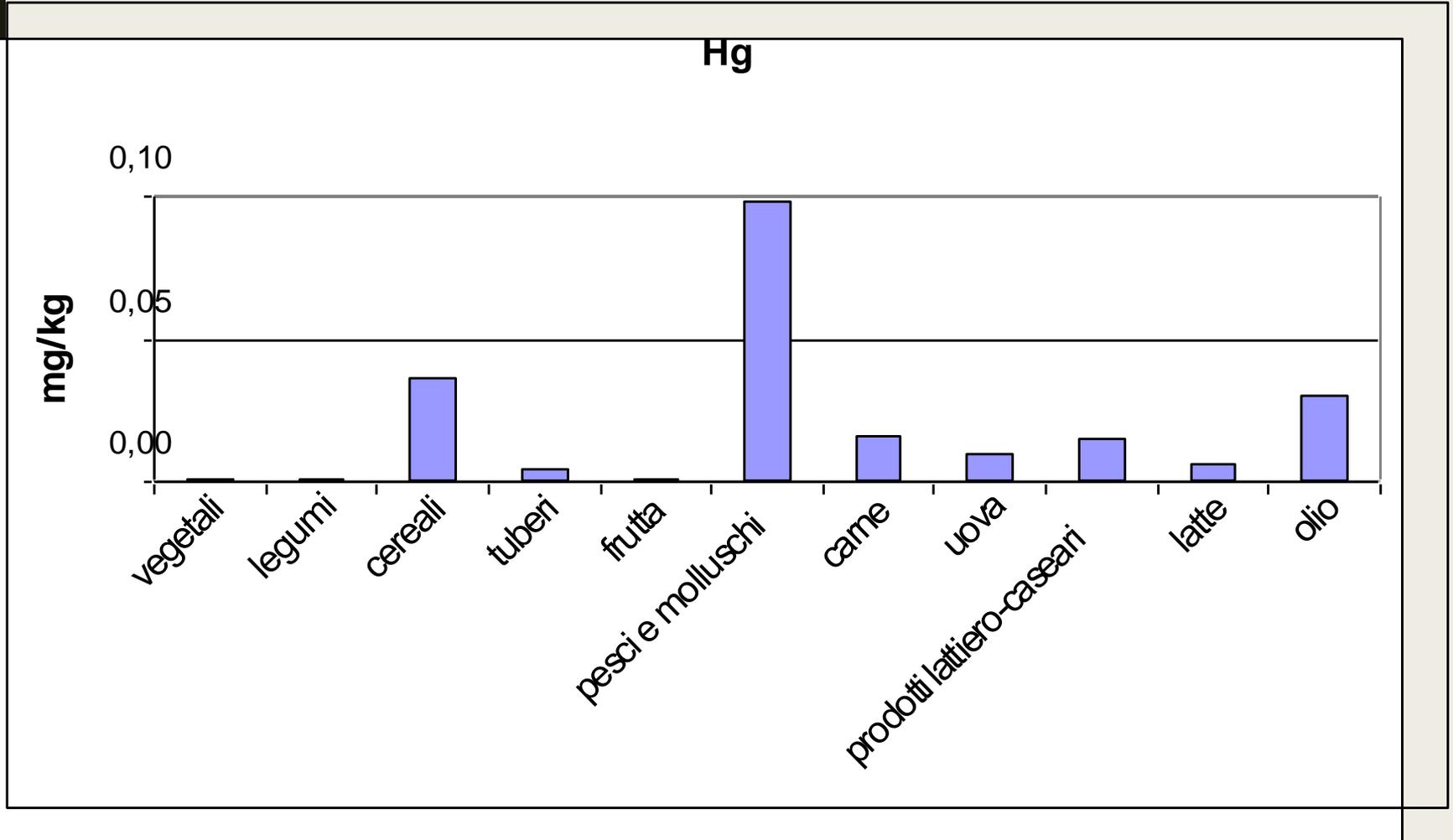
Gli animali (e l'uomo) che mangiano pesci contaminati assorbono metilmercurio, con rischi di tossicità neurologica.



Mercurio

Il principale effetto sulla salute umana è la **neurotossicità** negli adulti e la tossicità fetale nelle donne in gravidanza. L'esposizione cronica, dovuta principalmente ad esposizione a Cloruro di mercurio e metil mercurio, altera le funzioni normali soprattutto nel Sistema Nervoso Centrale provocando depressione, paure, allucinazioni, **perdita** di **concentrazione**, irritazione, perdita **di** memoria. Il **mercurialismo cronico** provoca una sintomatologia esattamente sovrapponibile alla sclerosi multipla.

Mercurio



Mercurio

3.3.1. Prodotti della pesca e muscolo di pesce, escluse le specie elencate al punto 3.3.2. Il tenore massimo si applica ai crostacei, escluse le carni scure del granchio e quelle della testa e del torace dell'aragosta e dei grossi crostacei analoghi (*Nephropidae* e *Palinuridae*)

0,50 mg/Kg

di pesce fresco

3.3.2. Muscolo dei seguenti pesci:

Rana pescatrice, Anguilla, Ippoglossi

Triglia, Palamita, Rombo, Razza

Scorfano, Pagello, Pesce spada, Tonno

1,0 mg/Kg

di pesce fresco

Perugini M, Visciano P, Manera M, Zaccaroni A, Olivieri V, Amorena M. Levels of total mercury in marine organisms from Adriatic Sea, Italy. *Bull Environ Contam Toxicol*. 2009;83(2):244-248. doi:10.1007/s00128-009-9758-9

Abstract

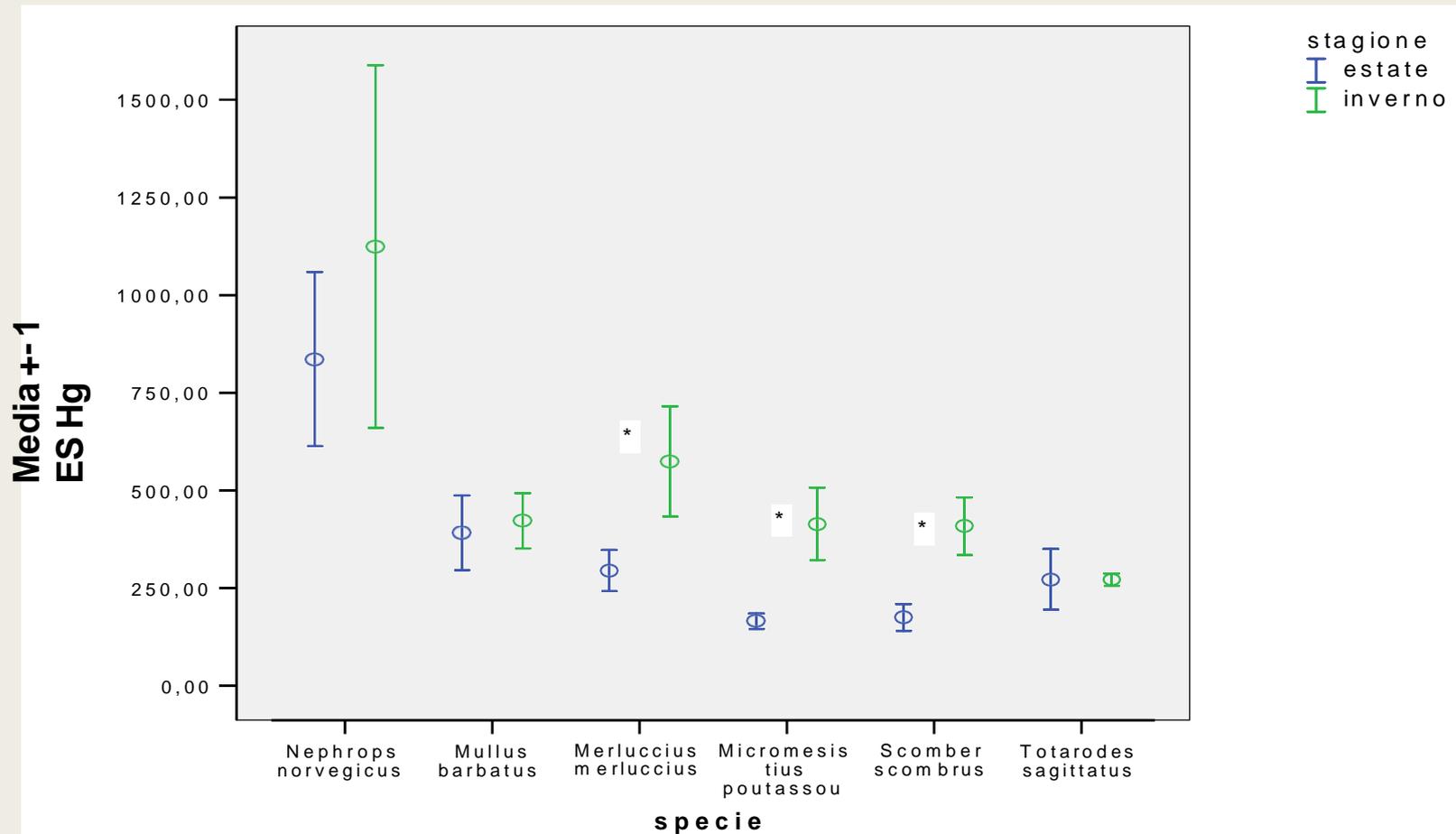
The presence of total mercury in fish, crustacean and cephalopod from Adriatic Sea, was investigated. The highest concentrations were observed in decreasing order in: *Norway lobster* (**0.97** +/- 0.24 mg/kg; mean +/- SE), European hake (0.59 +/- 0.14 mg/kg), red mullet (0.48 +/- 0.09 mg/kg), blue whiting (0.38 +/- 0.09 mg/kg), Atlantic mackerel (0.36 +/- 0.08 mg/kg) and European flying squid (0.25 +/- 0.03 mg/kg). A significant difference ($p < 0.01$) was found between the levels of total mercury in Norway lobster and those detected in all other species. **The 25% of all samples exceeded the maximum limit fixed by Commission Regulation (EC) No 1881/2006.** The results show that fish and fishery products can exceed the maximum levels and stress the need of more information for consumers in particular for people that eat large amount of fish.

Total **mercury** in fish from the Central Adriatic Sea in relation to level found in the hair of fishermen

Perugini M., D'Orazio N., Manera M., Giannella B., Zaccaroni A., Zucchini A., Giammarino A., Riccioni G., Ficoneri C. & **Amorena M.**

- **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics (2006)
29 (suppl. 1) 176-77**

Concentrazioni medie ed errore standard di Hg (ng/kg) riscontrate in **pesce pescati** nel medio adriatico



Valori medi delle concentrazioni di Hg (ng/kg) nelle specie ittiche analizzate e nei capelli di pescatori

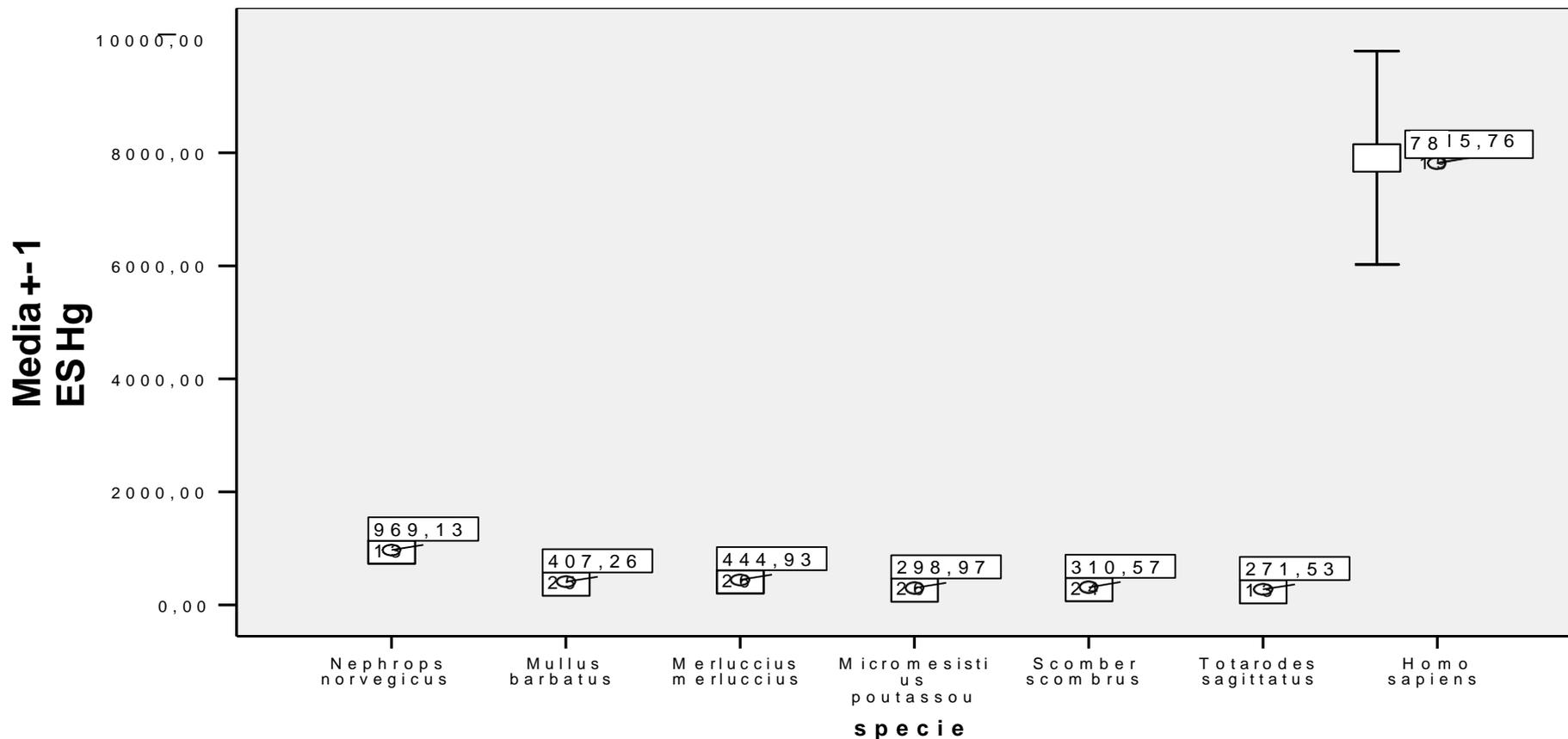
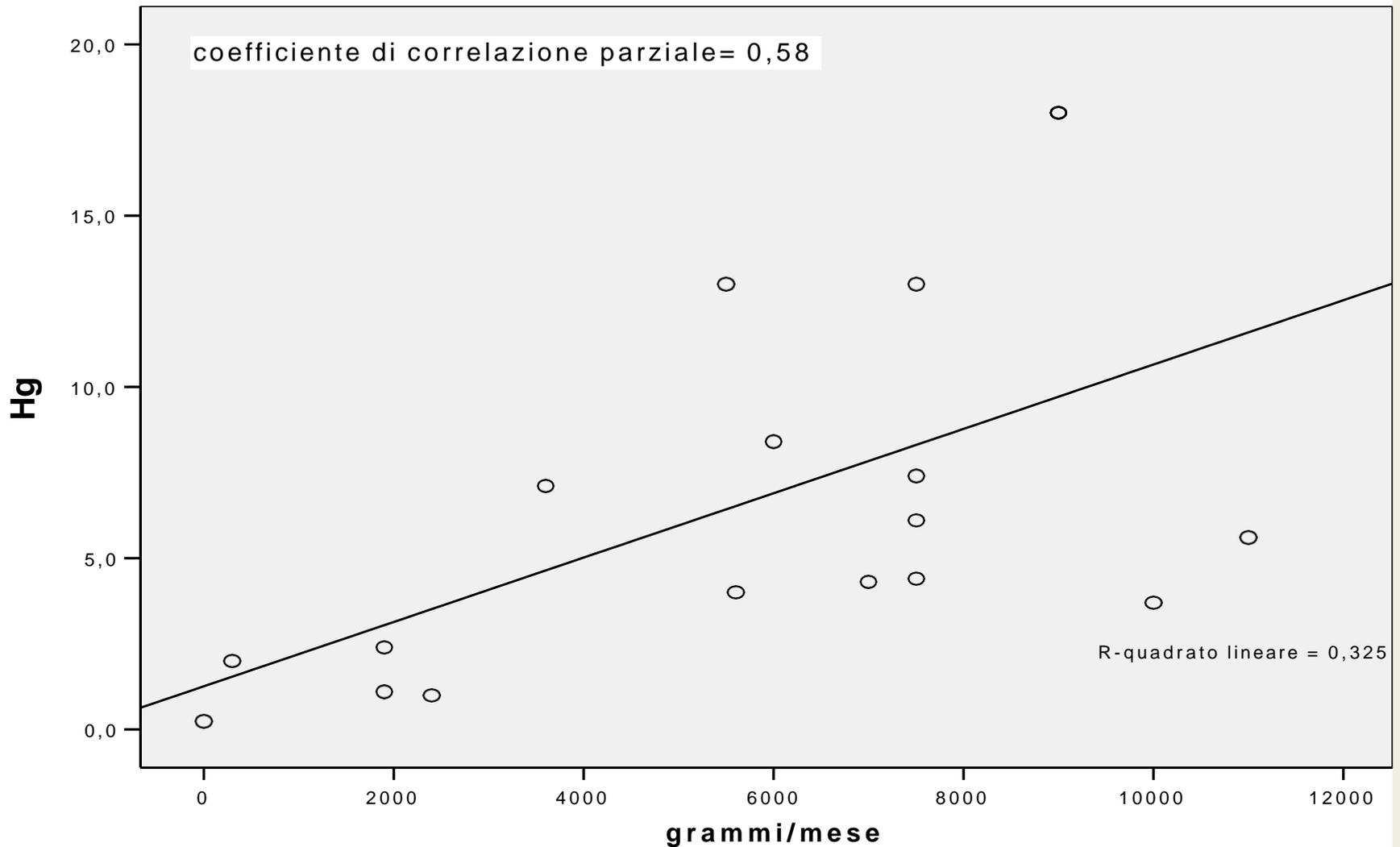


Grafico di dispersione delle concentrazioni di Hg nei **capelli di pescatori** in **relazione al consumo mensile di pesce**



Calcolo delle esposizioni alle CMA 0.5-1 mg/kg di Mercurio totale

Concentrazione mg/kg Hg-totale MetHg-90%	Consumo g/die	Esposizione $\mu\text{g}/\text{die}$	Esposizione $\mu\text{g}/\text{kg p.c.}/\text{die}$	Indice di rischio
0.45	32	14.4	0.24	1.05
0,45	130	58.5	0.97	4.24
0,9	32	28.2	0.47	2.05
0,9	130	117	1.95	8.53

TDI 0.23 $\mu\text{g}/\text{kg p.c.}/\text{die}$

Metallo	Fonte principale	Danno tossicologico	Rischio per l'uomo
Mercurio	Pesci, acqua contaminata, industria	Danni neurologici, renali, riproduttivi	Bioaccumulo nei pesci, tossicità da consumo
Arsenico	Acqua, pesticidi, mangimi	Lesioni gastrointestinali, epatiche, renali	Residui cancerogeni in carne, latte, uova
Cadmio	Suolo, foraggi, acqua industriale	Danno renale cronico, osteoporosi	Accumulo in reni e fegato, rischio alimentare

Casarett & Doull
Elementi di tossicologia
cap 4 pag 47 – 56
Cap 30 pag 399 -408