

# INDAGINE PLURIENNALE SUI CONTAMINANTI AMBIENTALI NEL LATTE CRUDO PROVENIENTE DALLA PROVINCIA DI TORINO: METALLI PESANTI, P.C.B., PESTICIDI ORGANOCLORURATI E ORGANOFOSFORATI ANNI 2005-2008

## **RESEARCH ON ENVIRONMENTAL CONTAMINATION IN RAW MILK IN TURIN DEPARTEMENT : HEAVY METALS, P.C.B, ORGANOCHLORINE AND ORGANOPHOSPHORUS PESTICIDES – YEARS 2005 – 2008**

Chiarelli S.1, Vivaldi B.3, Tarasco R.2, Gavinelli S.2, Cavallera S.1, Garrone M.1, Abete M.C.2

(<sup>1</sup>) A.S.L. TO 1 TORINO – Dipartimento di Prevenzione – S.C. Veterinaria Area “C”

(<sup>2</sup>) I.Z.S.PLVA – Laboratorio Contaminanti Ambientali

(<sup>3</sup>) I.Z.S.PLVA – Laboratorio Chimico Liguria

### **SUMMARY**

In the period between 2005 and 2008 was carried out a survey on 252 samples of raw bovine milk collected in Turin departement to certain levels of contamination by heavy metals (Cd, Cr, Fe, Hg, Pb, Zn), PCB and organophosphorus and organochlorine pesticides. These results argue that the levels of heavy metals, PCB and pesticides are well below what is expected by the European legislation and that the situation is under control and that raw milk meets the hygiene requirements for human health.

### **Key words**

Raw milk, P.C.B., heavy metals, organochlorine and organophosphorus pesticides.

### **INTRODUZIONE**

La qualità della vita e lo stato di salute sono strettamente correlati all'alimentazione e all'ambiente in cui vive l'uomo (1). Da ciò discende che la sicurezza alimentare, correlata al rischio chimico da contaminanti ambientali è sempre più fonte di crescente preoccupazione per il consumatore (2). **Il latte è un alimento che raccoglie su di sé molta attenzione sia dal punto di vista della pubblicità sia per le sue indubbie caratteristiche organolettiche associate a quelle chimico-fisiche e microbiologiche (3). Rappresenta l'alimento più importante nella dieta della prima infanzia (4) ed in quella dei bambini. Dal punto di vista meramente igienistico, il**

**medico veterinario deve conoscere tutti gli aspetti di questo alimento e tenere sempre ben presente che può essere veicolo di eventuali contaminanti ambientali fisici quali radionuclidi ( $Cs^{134}$  e  $Cs^{137}$ ) (5) e chimici (6). L'inquinamento del latte, inoltre, può essere causato dallo sviluppo di miceti (7) che, in adeguate condizioni formano micotossine quali aflatosine (8), tricoteceni, zearalenone, ocratossina. Tra gli eventuali inquinanti chimici del latte si possono trovare metalli pesanti (As, Cd, Cr, Fe, Hg, Pb) (9), P.C.B.(10)(11)(12) e pesticidi organoclorurati e organofosforati (13) (14). Sempre più è necessario monitorare tali contaminanti ambientali per meglio ottenere una mappatura del territorio e conseguentemente**

**delle aziende agricole produttrici di latte che gravitano sulla provincia di Torino. Molti sono i danni che possono provocare all'uomo ed in particolar modo ai bambini la presenza di mercurio nell'ambiente e, nel latte, può arrecare all'uomo anche danni irreversibili; nei bambini può essere causa di autismo. Il latte deve presentare oltre tutte le proprie caratteristiche intrinseche quali acidità, tenore di grasso, proteine, sali minerali vitamine idro e liposolubili anche essere, contestualmente, un alimento "sicuro" oltre che sotto il profilo microbiologico anche sotto quello chimico.**

**MATERIALI E METODI** - L'indagine è stata effettuata negli anni 2005 – 2008 ed ha interessato gli allevamenti bovini afferenti alla Centrale del Latte di Torino (n.75). Negli anni riguardanti l'indagine, con cadenza settimanale, sono stati prelevati N. 202 campioni di latte crudo bovino. I campioni di latte sono stati sottoposti ad analisi chimiche per la ricerca di metalli pesanti (As, Cd, Cr, Fe, Hg, Pb). Su 102 anche per la ricerca dei pesticidi organoclorurati (ALDRIN, BETA-ENDOSULFAN, CLORDANO BASE, DIELDRIN, ESACLOROBENZENE, ENDRIN, HEPTACLOR, LINDANO, METOSSICLORO, O-P'DDD, O-P'DDE, O-P'DDT, P-P'DDD, P-P'DDE, P-P'DDT) e organofosforati (AZINFHOS-ETHYL, CLORPYRIFOS, CLORPYRIFOS-METYL, DICLORVOS, DIAZINON) e 151 anche per i clorobifenili (PCB-28, PCB-52, PCB-95, PCB-99, PCB-101, PCB-105, PCB-110, PCB-118, PCB-138, PCB-146, PCB-149, PCB-151, PCB-153, PCB-170, PCB-177, PCB-180, PCB-183, PCB

I campionamenti sono stati così distribuiti negli anni:

anno 2005 sono stati prelevati 51 campioni di latte per ricerca metalli pesanti, 29 per ricerca pesticidi e 41 per ricerca dei P.C.B.;

anno 2006 50 campioni di latte per la ricerca dei metalli pesanti, 28 per ricerca pesticidi e 40 per ricerca dei P.C.B.;

anno 2007 sono stati prelevati 51 campioni di latte per la ricerca dei metalli pesanti, 23 per ricerca pesticidi e 36 per ricerca dei P.C.B.;

anno 2008 sono stati prelevati 50 campioni di latte per ricerca metalli pesanti, 22 per la ricerca dei pesticidi e 34 per ricerca dei P.C.B.

Le analisi per la ricerca dei metalli pesanti è stata effettuata presso il Laboratorio Contaminanti Ambientali dell'IZS.PLVA di Torino e la ricerca dei P.C.B e dei pesticidi presso il Laboratorio Chimico Liguria.

Per la determinazione dei policlorobifenili (PCB) si è proceduto come segue: 2 g del campione, opportunamente omogenato, sono stati caricati in ASE (Accelerated Solvent Extractor - Dionex ASE® 200 Solvent Extractor – Dionex Corporation, Sunnyvale, CAL, USA), permettendo così l'estrazione degli analiti di interesse mediante l'utilizzo di una miscela di acetone/n-esano 1:1 (V/V) e lavorando ad elevate temperatura (100°C) e pressione (102 atm). La fase di concentrazione e di purificazione è stata realizzata in SPE (solid-phase extraction), mediante la combinazione di due cartucce poste in serie: una cartuccia in Silice (1g/6ml) ed una Extrelut NT-3 (3 g), a cui sono stati aggiunti 4 ml di acido solforico concentrato, che permette la distruzione del grasso. Per l'eluizione sono stati utilizzati 13 ml di n-esano. L'analisi strumentale è stata realizzata usando un gas cromatografo accoppiato ad uno spettrometro di massa con analizzatore a singolo quadrupolo e sorgente a ionizzazione elettronica (DSQ – Thermo Electron, Austin, TX, USA) e mediante l'impiego della modalità SIM (Selected Ion Monitoring), che consente la simultanea identificazione e quantificazione degli analiti.

La fase di estrazione dei pesticidi clorurati e fosforati dalla matrice del campione è stata condotta secondo le stesse modalità utilizzate per la ricerca dei PCB. La fase di purificazione e concentrazione del campione è stata condotta, anche per questi analiti, mediante SPE, ma utilizzando tre cartucce in serie, come riportato di seguito: una cartuccia C18 (0,5g/6ml), una cartuccia in Silice (1g/6ml) ed una extrelut NT-3 (3g). L'eluizione è stata condotta con 15 ml di acetonitrile saturo di n-esano. L'analisi strumentale è stata realizzata usando un gas cromatografo (Model 3300GC/Star 3400 CX GC- Varian Inc., Walnut Creek, CA, USA) con rilevatore a cattura di elettroni (ECD), specifico per i composti clorurati ed un rivelatore termoionico (TSD) e per i composti fosforati. Ogni campione (2 gr), (15) per la ricerca dei metalli pesanti, è stato omogeneizzato e mineralizzato in forno a microonde ad alta pressione in presenza di una miscela di acido nitrico (7 ml) e perossido di idrogeno (1.5 ml). Le letture spettrofotometriche per Cadmio, Piombo, Arsenico e Cromo (16) sono state condotte mediante spettrofotometro ad Assorbimento Atomico con riscaldamento trasversale ed effetto Zeeman longitudinale con lampade a catodo cavo specifiche per ogni metallo. La lettura del Ferro è stata condotta mediante spettrofotometro AAS in fiamma con lampada a catodo cavo specifica e correzione del fondo tramite lampada al Deuterio. Di seguito sono riportati i parametri strumentali forniti di grafite.

| METALLO  | LUNGHEZZA D'ONDA(nm) | SPLIT (nm) | TEMPERATURA DI ATOMIZZAZIONE |
|----------|----------------------|------------|------------------------------|
| ARSENICO | 193.7                | 0.7        | 2300°                        |
| CADMIO   | 228.8                | 0.7        | 1600°                        |
| CROMO    | 357.9                | 0.7        | 2300°                        |
| PIOMBO   | 283.3                | 0.7        | 1600°                        |

Sono stati utilizzati come modificatori di matrice:

Ni(NO3)2 per l'Arsenico

NH4H2PO4+Mg(NO3)2 per il Cadmio e il Piombo

Mg(NO3)2 per il Cromo.

Parametri strumentali in fiamma:

| METALLO | LUNGHEZZA D'ONDA(nm) | SPLIT (nm) |
|---------|----------------------|------------|
| FERRO   | 248.3                | 0.2        |

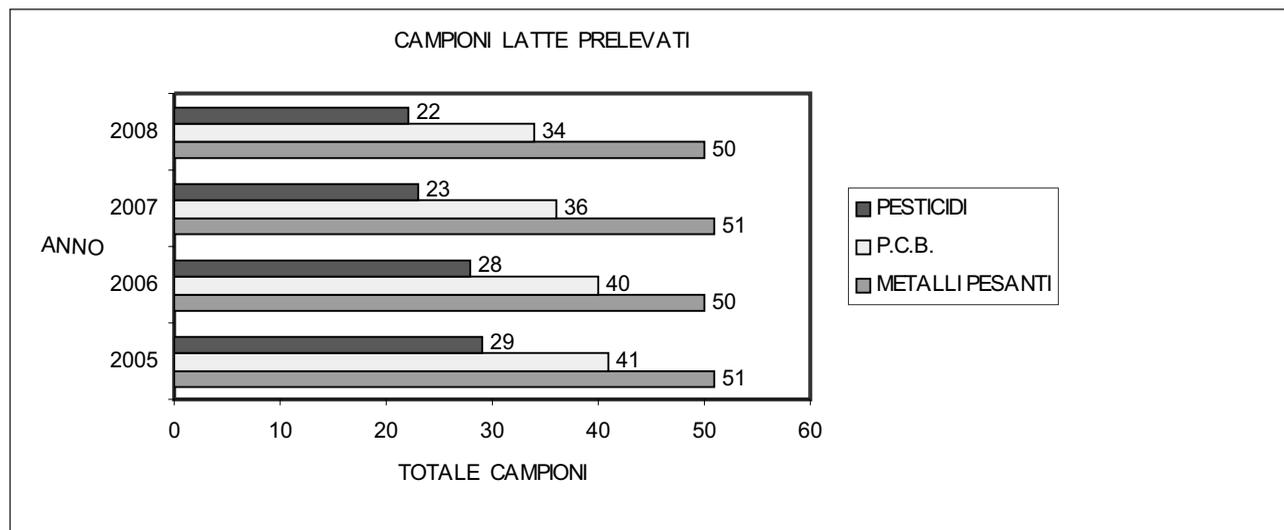
La ricerca del Mercurio è stata eseguita utilizzando l'analizzatore diretto del mercurio TDA-AAS (Thermal decomposition amalgamation and Atomic absorption spectrophotometry)(17) pesando 0.1 g. di campione. Le concentrazioni dei metalli sono state ricavate per confronto con curve di calibrazione ottenute da soluzioni standard. I limiti di quantificazione (LOQ) sono per Arsenico, Cadmio 0,01

mg/Kg, per Cromo 0,05 mg/Kg, per Piombo 0,04 mg/Kg e per Mercurio 0,100 mg/Kg.

## RISULTATI

In tutti i campioni di latte sottoposti ad analisi i tenori dei metalli pesanti riscontrati sul tal quale, sono stati tutti al di sotto o in prossimità dei limiti di quantificazione (LOQ). I limiti prescritti dal Regolamento CE n.333/2007 (18) sono ampiamente rispettati anche per il piombo., metallo più facilmente rilevabile negli alimenti che si possono rinvenire nelle zone urbane ed extra-urbane. Per quanto riguarda i pesticidi organoclorurati e fosforati oggetto della ricerca risultano essere tutti ≤ 10 ng/g (ppb). Analogo discorso è doveroso fare per i tenori massimi per le diossine e PCB diossina-simili che risultano anch'essi essere ben al di sotto dei limiti richiesti dal Regolamento CE N.1883/2006 (19) e so-

Grafico 1. N. campioni latte analizzati negli anni 2005-2006.



Tab.1. Analisi per PCB in N.152 Tab. 2 Analisi per pesticidi fosforati e . . campioni di latte clorurati in N.102 campioni di latte

| P. C. B.                           |                   |
|------------------------------------|-------------------|
| Analita                            | Risultato Analita |
| PCB-28 (BASE LIPIDICA)             | NR(<3 NG/G)       |
| PCB-52 (BASE LIPIDICA)             | NR(<3 NG/G)       |
| PCB-95 (BASE LIPIDICA)             | NR(<3 NG/G)       |
| PCB-99 (BASE LIPIDICA)             | NR(<3 NG/G)       |
| PCB-101 (BASE LIPIDICA)            | NR(<3 NG/G)       |
| PCB-105 (BASE LIPIDICA)            | NR(<3 NG/G)       |
| PCB-110 (BASE LIPIDICA)            | NR(<3 NG/G)       |
| PCB-118 (BASE LIPIDICA)            | NR(<3 NG/G)       |
| PCB-138 (BASE LIPIDICA)            | NR(<3 NG/G)       |
| PCB-146 (BASE LIPIDICA)            | NR(<3 NG/G)       |
| PCB-149 (BASE LIPIDICA)            | NR(<3 NG/G)       |
| PCB-151 (BASE LIPIDICA)            | NR(<3 NG/G)       |
| PCB-153 (BASE LIPIDICA)            | NR(<3 NG/G)       |
| PCB-170 (BASE LIPIDICA)            | NR(<3 NG/G)       |
| PCB-177 (BASE LIPIDICA)            | NR(<3 NG/G)       |
| PCB-180 (BASE LIPIDICA)            | NR(<3 NG/G)       |
| PCB-183 (BASE LIPIDICA)            | NR(<3 NG/G)       |
| PCB-187 (BASE LIPIDICA)            | NR(<3 NG/G)       |
| PCB- SOMMA CONGENERI               | NON RILEVABILI    |
| PESTICIDI CLORURATI E FOSFORATI    |                   |
| Analita                            | Risultato Analita |
| ALDRIN (BASE LIPIDICA)             | NR < 10ng/g (ppb) |
| BETA-ENDOSULFAN (BASE LIPIDICA)    | NR < 10ng/g (ppb) |
| CLORDANO O (BASE LIPIDICA)         | NR < 10ng/g (ppb) |
| DIELDRIN (BASE LIPIDICA)           | NR < 10ng/g (ppb) |
| ESACLOBENZENE (BASE LIPIDICA)      | NR < 10ng/g (ppb) |
| ENDRIN (BASE LIPIDICA)             | NR < 10ng/g (ppb) |
| HEPTACLHLOR (BASE LIPIDICA)        | NR < 10ng/g (ppb) |
| LIDANO (BASE LIPIDICA)             | NR < 10ng/g (ppb) |
| METOSSICLORO (BASE LIPIDICA)       | NR < 10ng/g (ppb) |
| O-P'DDD (BASE LIPIDICA)            | NR < 10ng/g (ppb) |
| O-P'DDE (BASE LIPIDICA)            | NR < 10ng/g (ppb) |
| O-P'DDT (BASE LIPIDICA)            | NR < 10ng/g (ppb) |
| P-P'DDD (BASE LIPIDICA)            | NR < 10ng/g (ppb) |
| P-P'DDE (BASE LIPIDICA)            | NR < 10ng/g (ppb) |
| P-P'DDT (BASE LIPIDICA)            | NR < 10ng/g (ppb) |
|                                    |                   |
| AZINPHOS-ETHIL (BASE LIPIDICA)     | NR < 10ng/g (ppb) |
| CLORPYRIFOS (BASE LIPIDICA)        | NR < 10ng/g (ppb) |
| CLORPYRIFOS-METHYL (BASE LIPIDICA) | NR < 10ng/g (ppb) |
| CLORVOS (BASE LIPIDICA)            | NR < 10ng/g (ppb) |
| DIAZINON (BASE LIPIDICA)           | NR < 10ng/g (ppb) |

prattutto non rilevabile alla strumentazione la somma dei congeneri.

## CONSIDERAZIONI E CONCLUSIONI

I risultati di questa indagine risultano alquanto rassicuranti sotto il profilo del rischio chimico da metalli pesanti, pesticidi e P.C.B. in quanto non sono emersi, durante il periodo preso in esame, problemi tali da destare preoccupazioni sanitarie. Concludendo si può affermare che l'azione di controllo degli eventuali contaminanti ambientali del latte può assumere la valenza di controllo della situazione ambientale, di verifica igienico sanitaria dell'alimento e di azione preventiva sull'uomo nel senso più ampio del termine.

## BIBLIOGRAFIA

- 1) Maubois J.L. Milk and dairy for human nutrition: contribution of technology. *Bull Acad Nati Med.* 2008 Apr; 192(4):703-11.
- 2) Martinez MP, Angulo R., Pozo.R., Jodral M. Organochlorine pesticides in pasteurized milk and associated health risks. *Food Chem Toxicol.* 1987 Jun;35(6):621-4.
- 3) Boersma E.R. and Lanting C.I. Environmental exposure to polychlorinated biphenyls (PBCs) and dioxin. Consequences for longterm neurological and cognitive development of the child lactation. *Adv Exp Med Biol.* 478: 271-87 (2000).
- 4) Advise of the scientific panel on contaminants in the food chain on a request from the Commission related to relevant chemical compounds in the group of brominated flame retarded flame retardants for monitoring in feed and food. *AFSA J* 2006;328:1-4.
- 5) Avanzi D., Chiarelli S., Losana M.C., Magnoni M.. Monitoraggio della radioattività ambientale mediante ricerca di isotopi radioattivi in latte proveniente da allevamenti della provincia di Torino dal dopo Chernobyl ad oggi (1986-2004). *Atti AIVI XV Convegno Nazionale.*
- 6) Sauvant D., Schmidely P.. Control of milk composition and quality on the farm. *Bull Acad Nati Med* 2008 Apr;192(4):693-702.
- 7) S rensen L.K., Elbæk T-H..(2005) Determination of mycotoxins in bovine milk by liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Journal of chromatography B*, 820,87-93
- 8) Bonerba E., Ceci E., Gallotta G.. Aflatossina M1: metodi di analisi e rischio nel latte. *Atti AIVI XV Convegno Nazionale.*

- 9) Simsek O., G İtekin R., Obsüz O., Kurultay S. The effect of environmental pollution on the heavy metal content of raw milk. *Nahrung*. 2000 Oct; 44(5):360-3-
- 10) Kypke-Hutter K., Malisch R. Polychlorinated biphenyls: determination of individual components in raw milk and contaminated fodder. *Lebensm Unter Forssch*. 1989 Feb; 188(2):127-34.
- 11) Fattore E., Fanelli R., Dellatte E. Turrini A., di Domenico A. Assesment of dietary exposure to nondioxin-like PCBs of the italian general population. *Chemosphere*. 2008 Aug; 73(1 Suppl): S278-83.
- 12) Gajd sková V., Ulrich R. Use of polychlorinated biphenyl congener analysis for monitoring food and raw material of animal origin. *Vet Med (Praha)*. 1992 Aug; 37(8):471-8
- 13) Gazzotti T., Sticca P. Zironi E. Lugoboni B., Serraino A. Pagliuca G. Determination of 15 organophosphorus pesticides in italian raw milk. *Bull. Environ Contam Toxicol*. 2009 Feb; 82(2):251-4
- 14) Pagliuca G. Serraino A. Gazzotti T., Zironi E., Borsari A., Rosmini R. Organophosphorus pesticides residues in italian raw milk. *Dairy Res*. 2006 Ag; 73(3):340-4.
- 15) UNI EN 13805(2001). Foodstuffs – Determination of trace elements – pressure digestion.
- 16) UNI EN 14083 (2003). Foodstuffs – Determination of trace elements – Determination of lead, cadmium, chromium and molybdenum by graphite furnace atomic absorption spectrometry (GFAAS) after pressure digestion.
- 17) EPA Method 7473 (1998). Mercury in solids and solutions by thermal decomposition amalgamation and atomic absorption spectrometry.
- 18) Regolamento (CE) N.333/2007 della Commissione del 28 marzo 2006 che stabilisce metodi di campionamento ed analisi per il controllo ufficiale dei tenori di piombo, cadmio, mercurio, stagno inorganico, 3-MCPD e benzo(a)pirene nei prodotti alimentari.
- 19) Regolamento (CE) N.1883/2006 della Commissione del 19 dicembre 2006 che stabilisce i metodi di campionamento e d'analisi per il controllo ufficiale dei livelli massimi di diossine e di PCB diossina-simili in alcuni prodotti alimentari.