I risultati della ricerca corrente condotta dall'Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e del Molise "G. Caporale"

Anno 2013

Teramo, 6 giugno 2014

IZSAM G.CAPORALE TERAMO

Concentrazione e distribuzione di diossine e PCB in tessuti e fluidi biologici di ovini allevati in prossimità di un termovalorizzatore

Risultati preliminari

Roberta Ceci

LNR diossine e PCB in alimenti e mangimi

IZSAM G.CAPORALE TERAMO

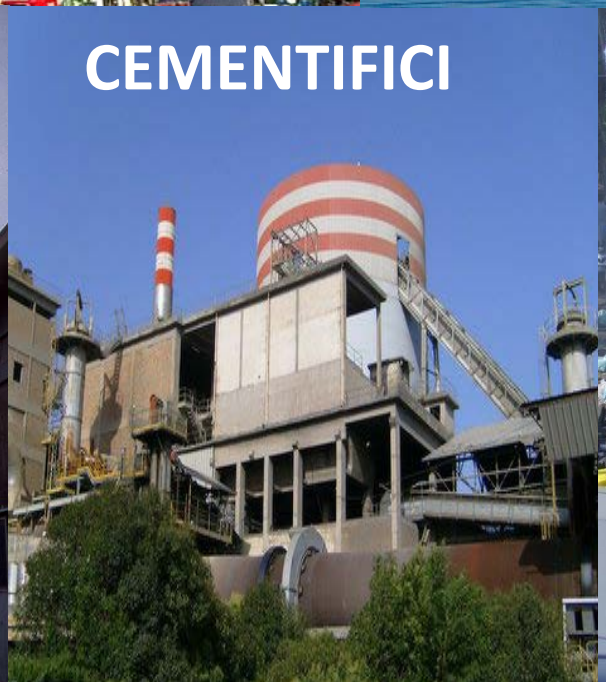
PCDD/F e PCB
Laboratorio Nazionale di Riferimento

IZS AM 05/12 RC

Ricerca finanziata dal Ministero della Salute, Dipartimento della Sanità Pubblica Veterinaria, della Sicurezza Alimentare e degli Organi Collegiali per la Tutela della Salute

Progetto IZS AM 05/12 RC

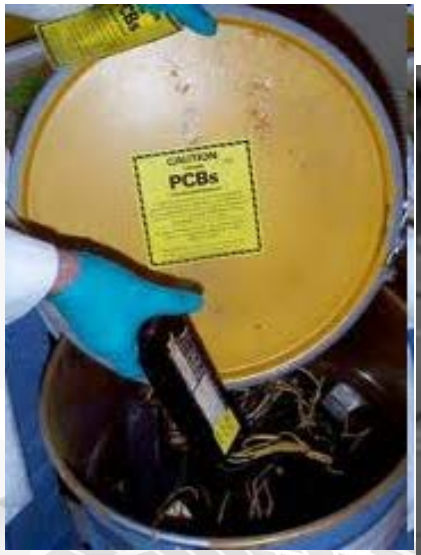
Introduzione: fonti diossine

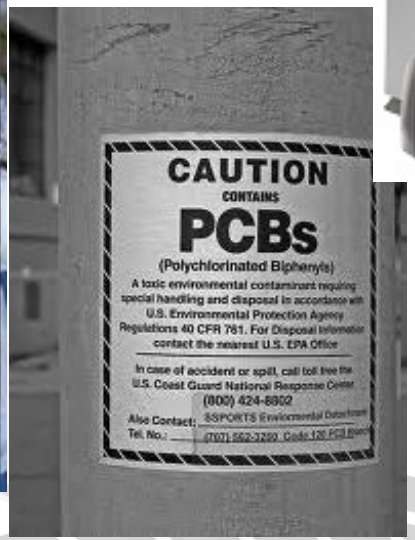


Introduzione: fonti PCB

I PCB sono stati intenzionalmente prodotti e commercializzati per usi industriali

- Fluidi dielettrici per transformatori/ condensatori
- Fluidi idraulici
- Altre applicazioni





Introduzione

Esposizione umana

- Esposizione accidentale
- Esposizione occupazionale
- Esposizione ambientale
  - la dieta rappresenta la via principale di esposizione per l'uomo **(90%)**

IZSAM G.CAPORALE TERAMO

PCDD/F e PCB
Laboratorio Nazionale di Riferimento

Introduzione

Carenza di dati sul bioaccumulo di tali sostanze nei tessuti degli ovini

Definizione di nuove strategie per gestire i casi di contaminazione degli allevamenti

Protezione della salute umana

Consequenze economiche

Legislazione

I limiti massimi per diossine, somma diossine e DL-PCB e somma 6 PCB indicatori NDL-PCB negli alimenti sono fissati:

- Regolamento della Commissione (CE) N. 1881/2006
- Regolamento della Commissione (CE) N. 1259/2011
- Regolamento della Commissione (CE) N. 1067/2013 **(fegato di animali terrestri)**

Introduzione

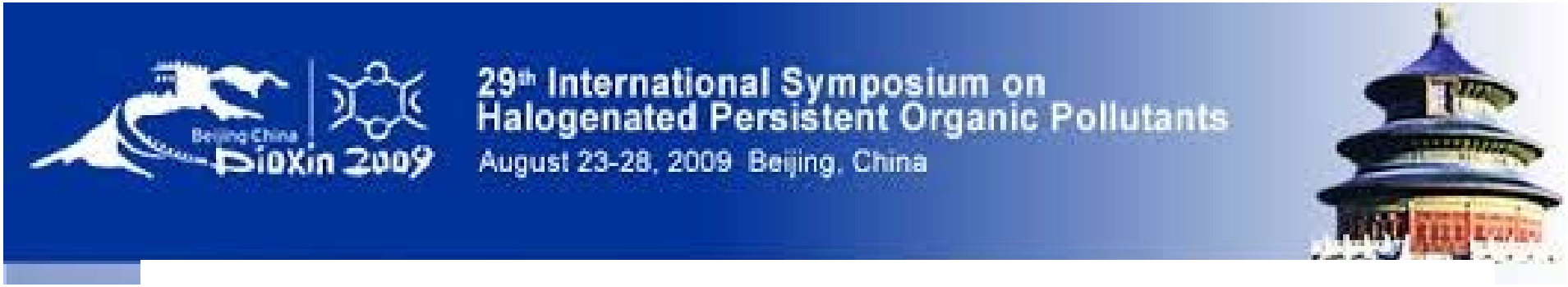
Legislazione

Alimenti	Diossine (WHO-PCDD/F-TEQ)	Somma diossine e DL-PCB (WHO-PCDD/F-PCB-TEQ)	Somma 6 NDL-PCB (ng/g)
Fegato di ovini e prodotti derivati	1.25 pg/g di peso fresco	2.00 pg/g di peso fresco	3.00 ng/g di peso fresco
Grasso / carne di ovini	2.5 pg/g di grasso	4.0 pg/g di grasso	40 ng/g di grasso

IZSAM G.CAPORALE TERAMO

PCDD/F e PCB
Laboratorio Nazionale di Riferimento

Introduzione



DIOXIN LEVELS IN LIVESTOCK AND GRASSLAND NEAR A LARGE INDUSTRIAL AREA IN TARANTO (ITALY)

Diletti G., Ceci R., Scortichini, G., Migliorati G.

Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e del Molise "G. Caporale" National Reference Laboratory for Dioxins and PCBs in food and feed, Via Campo Boario, 64100 Teramo, Italy;

Abstract

Dioxin levels exceeding the European Union tolerance limits were found in sheep and goat milk samples collected in the immediate surrounding of a large industrial area near Taranto, Apulia region (Italy). An intensive monitoring effort was performed in the period March 2008 – February 2009 to investigate the extent of the contamination. A total of 96 food and feed samples were analysed. Among food, 30 samples exceeded the maximum tolerance level for dioxins (PCDD/Fs) and/or dioxins + dioxin-like PCBs (dl-PCBs). The highest concentration for PCDD/Fs + dl-PCBs was 279.2 pg WHO-TEQ/g fat for a sheep liver. Main contribution to WHO-TEQ was due to dl-PCBs (range 73-91% except for liver 48%). Feed samples were compliant although PCDD/Fs and dl-PCBs concentrations were significantly higher than background levels.

IZSAM G.CAPORALE TERAMO

PCDD/F e PCB
Laboratorio Nazionale di Riferimento

Introduzione

European Food Safety Authority

EFSA Journal 2011;9(7):2297

SCIENTIFIC OPINION

Scientific Opinion on the risk to public health related to the presence of high levels of dioxins and dioxin-like PCBs in liver from sheep and deer[1]

EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM Panel)[2, 3]

European Food Safety Authority (EFSA), Parma, Italy

IZSAM G.CAPORALE TERAMO

PCDD/F e PCB
Laboratorio Nazionale di Riferimento

Introduzione

Nel 2009 un gregge di pecore è stato abbattuto a seguito di un caso di contaminazione da diossine e PCB nella provincia di Lecce

L'allevamento era situato nelle vicinanze di un'area industriale e di un termovalorizzatore

IZSAM G.CAPORALE TERAMO

PCDD/F e PCB
Laboratorio Nazionale di Riferimento

Obiettivo dello studio

- Misurare i livelli di diossine e PCB in differenti comparti di pecore esposte in funzione dell'età e del numero di lattazioni (parti) dell’animale
- Valutare il profilo di contaminazione congenere-specifico delle diossine e PCB nei diversi tessuti di ovini

Materiali e Metodi

Campionamento

Animali selezionati in funzione

- ETÀ (mesi)
- NUMERO LATTAZIONI

Matrici campionate

- FEGATO
- MUSCOLO
- GRASSO PERIRENALE

IZSAM G.CAPORALE TERAMO

PCDD/F e PCB
Laboratorio Nazionale di Riferimento

Materiali e Metodi

Campionamento

Gruppo	N° animali	N° campioni
Agnelli <3 mesi	3	9
Agnelli 3-8 mesi	3	9
Pecore I parto	3	9
Pecore II parto	3	9
Pecore III parto	3	9
Totale	15	45

IZSAM G.CAPORALE TERAMO

PCDD/F e PCB
Laboratorio Nazionale di Riferimento

Materiali e Metodi

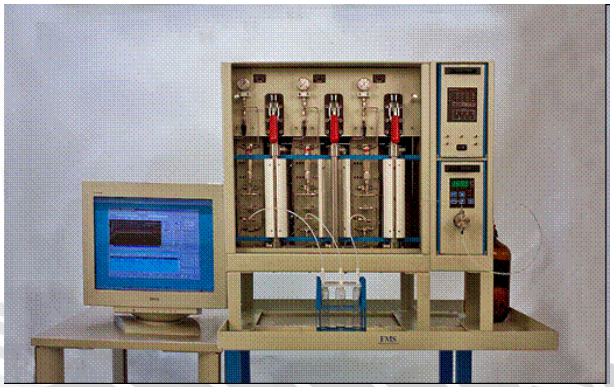
Analisi Chimica

PCDD/PCDF	DL-PCB	NDL-PCB
PCDD	**non-*ortho*-PCB**	
2,3,7,8-TCDD	PCB-77	PCB-28
1,2,3,7,8-PeCDD	PCB-81	PCB-52
1,2,3,4,7,8-HxCDD	PCB-126	PCB-101
1,2,3,6,7,8-HxCDD	PCB-169	PCB-138
1,2,3,7,8,9-HxCDD		PCB-153
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD		PCB-180
OCDD		
PCDF	**mono-*ortho*-PCB**	
2,3,7,8-TCDF	PCB-105	
1,2,3,7,8-PeCDF	PCB-114	
2,3,4,7,8-PeCDF	PCB-118	
1,2,3,4,7,8-HxCDF	PCB-123	
1,2,3,6,7,8-HxCDF	PCB-156	
2,3,4,6,7,8-HxCDF	PCB-157	
1,2,3,7,8,9-HxCDF	PCB-167	
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	PCB-189	
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF		
OCDF		

Materiali e Metodi

Estrazione: ASE o PLE

ASE
Esano/Acetone (80:20, v/v)
T = 125°C
P = 1500 psi
3 cicli di estrazione



PLE
Esano/Acetone (80:20, v/v)
T = 125°C
P = 1500 psi
3 cicli di estrazione

Materiali e Metodi

Purificazione

Fase 1: Partizione liquido-liquido

1. Acido Solforico (98%)
2. Cloruro di sodio (10%)
3. Idrossido di potassio (20%)
4. Cloruro di sodio (10%)

IZSAM G.CAPORALE TERAMO

PCDD/F e PCB
Laboratorio Nazionale di Riferimento

Materiali e Metodi

Purificazione

Fase 2: Purificazione su colonne di Silica, Alumina e Carbone

POWER-PREP™

1. Gel di Silica multistrato
2. Alumina Basica
3. Carbone

PCB
PCDD/F

3. Toluene

PCDD/F

2. Esano:diclorometano 95:5 (v/v)

PCB

GC-HRMS

IZSAM G.CAPORALE TERAMO

PCDD/F e PCB
Laboratorio Nazionale di Riferimento

Materiali e Metodi

GC-HRMS

SEPARAZIONE CROMATOGRAFICA

- DB-5 MS (60 m x 0.25 mm, 0.10 μm): **PCDD/F**
- HT-8 PCB (60 m x 0.25 mm ID): **DL-PCB e NDL-PCB**

DETERMINAZIONE ANALITICA

- Risoluzione ≥ 10000
- Acquisizione in Single Ion Monitoring

IZSAM G.CAPORALE TERAMO

PCDD/F e PCB
Laboratorio Nazionale di Riferimento

Risultati: livelli di contaminazione

I livelli di contaminazione sono riportati su base lipidica

24 campioni non conformi (53%) per almeno un parametro

13 animali (87%) con livelli di contaminazione superiori ai limiti massimi in almeno una delle tre matrici analizzate

IZSAM G.CAPORALE TERAMO

PCDD/F e PCB
Laboratorio Nazionale di Riferimento

Risultati: livelli di contaminazione

GRASSO PERIRENALE (media ± DS)

Parametro	< 3 Mesi	3-8 Mesi	I Parto	II Parto	III parto
WHO_{05}-PCDD/PCDF-TEQ (pg/g grasso)	0,70 ± 0,11	1,52 ± 0,80	0,44 ± 0,37	0,42 ± 0,02	2,79 ± 1,80
WHO_{05}-PCB-TEQ (pg/g grasso)	3,72 ± 0,97	7,12 ± 4,36	2,41 ± 1,39	2,84 ± 0,19	9,10 ± 3,74
Somma 6 PCB indicatori (ng/g grasso)	11,00 ± 4,66	38,37 ± 31,88	9,04 ± 6,82	11,33 ± 4,27	29,90 ± 21,79

MUSCOLO (media ± DS)

Parameter	< 3 Mesi	3-8 Mesi	I Parto	II Parto	III Parto
WHO_{05}-PCDD/PCDF-TEQ (pg/g grasso)	0,58 ± 0,38	1,31 ±0,73	0,53 ± 0,28	0,65 ± 0,22	1,29 ± 0,01
WHO_{05}-PCB-TEQ (pg/g grasso)	3,65 ± 1,41	5,53 ± 4,46	2,24 ± 0,72	2,43 ± 1,63	3,05 ± 2,05
Somma 6 PCB indicatori (ng/g grasso)	11,14 ± 6,37	30,14 ± 14,06	17,30 ± 11,31	10,96 ± 5,90	13,99 ± 6,11

IZSAM G.CAPORALE TERAMO

PCDD/F e PCB
Laboratorio Nazionale di Riferimento

Risultati: livelli di contaminazione

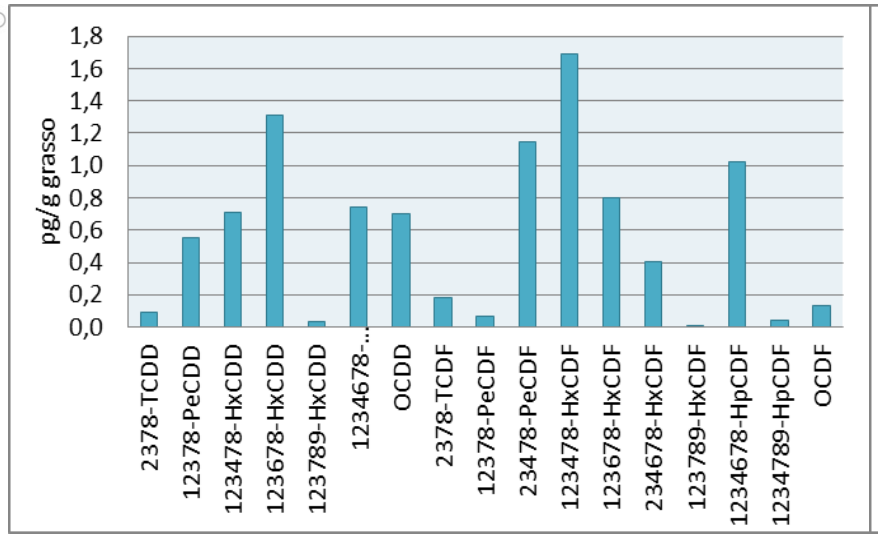
FEGATO (media ± DS)

Parametro	< 3 Mesi	3-8 Mesi	I Parto	II Parto	III Parto
WHO_{05}-PCDD/PCDF-TEQ (pg/g grasso)	19,93 ± 6,42	63,65 ± 34,43	21,27 ± 7,71	25,30 ± 10,29	34,90± 11,55
WHO_{05}-PCB-TEQ (pg/g grasso)	24,75 ± 13,91	94,10 ± 37,70	50,23 ± 19,88	51,49 ± 7,16	59,90 ± 32,09
Somma 6 PCB indicatori (ng/g grasso)	32,72 ±13,83	179,30 ± 50,70	73,01 ± 54,54	52,69 ± 25,26	31,38 ± 21,71

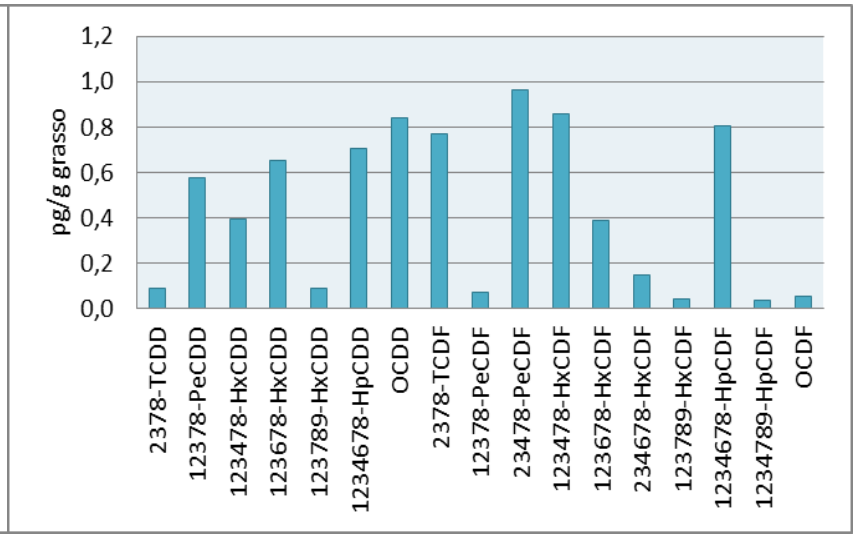
Risultati: profilo di contaminazione

PCDD/F e PCB
Laboratorio Nazionale di Riferimento

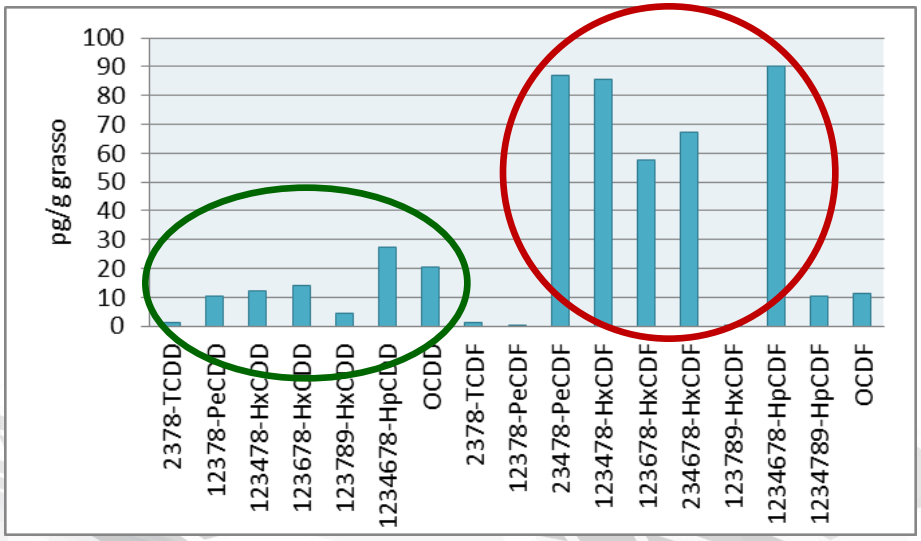
GRASSO



MUSCOLO



FEGATO



PCDD-PCDF

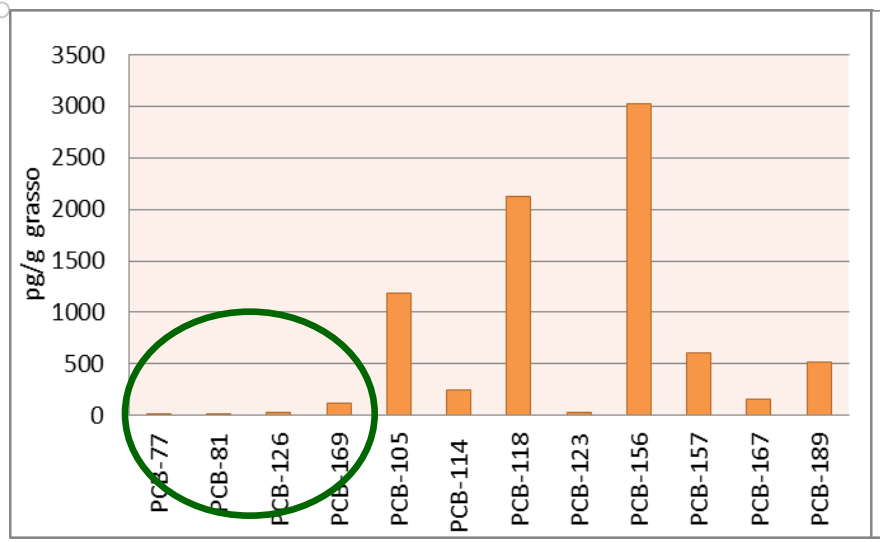
(Agnelli 3-8 mesi)

IZSAM G.CAPORALE TERAMO

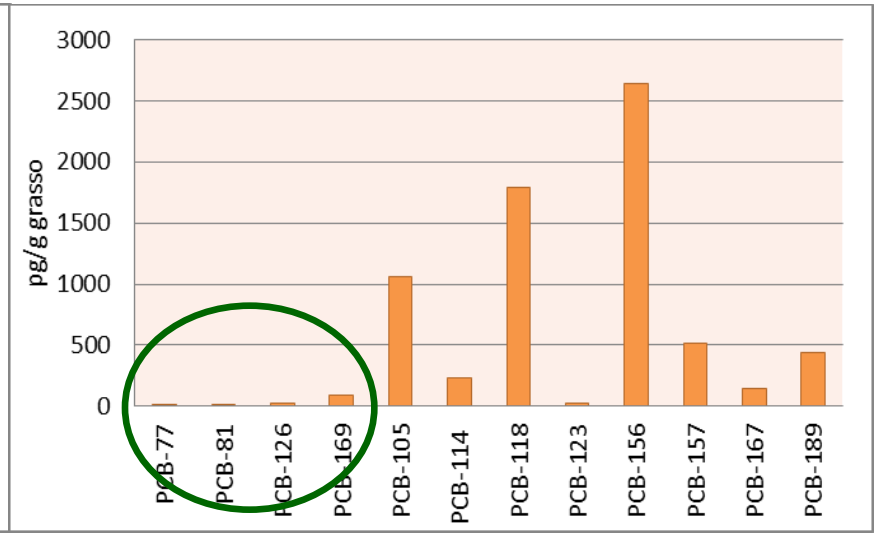
PCDD/F e PCB
Laboratorio Nazionale di Riferimento

Risultati: profili di contaminazione

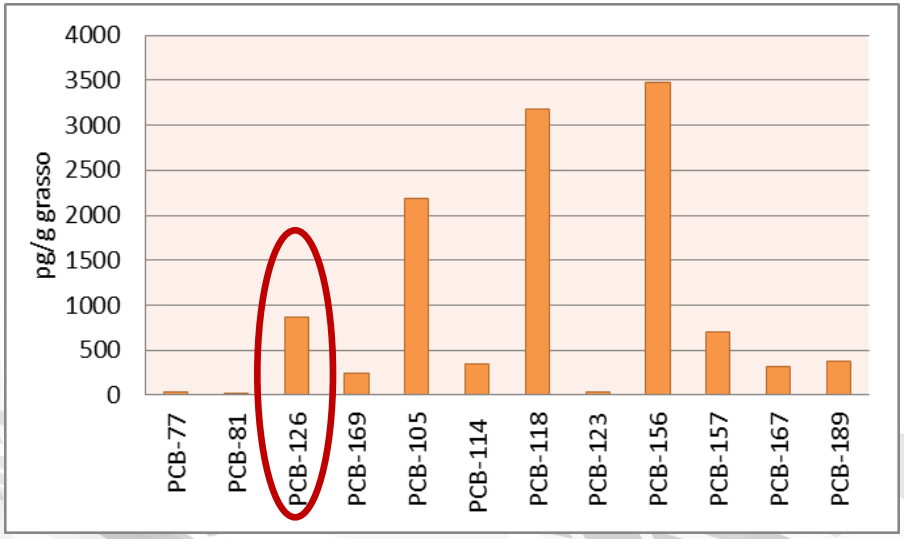
GRASSO



MUSCOLO



FEGATO



DL-PCB

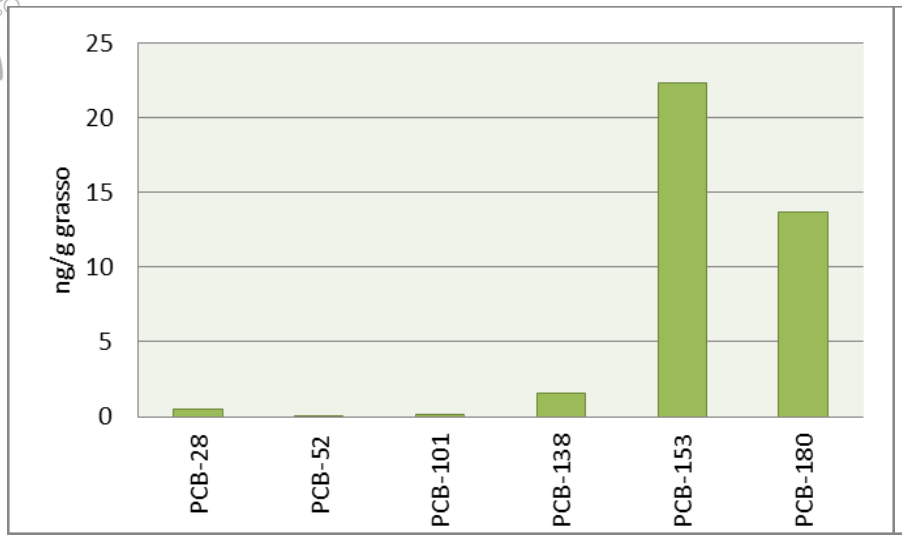
(Agnelli 3-8 mesi)

IZSAM G.CAPORALE TERAMO

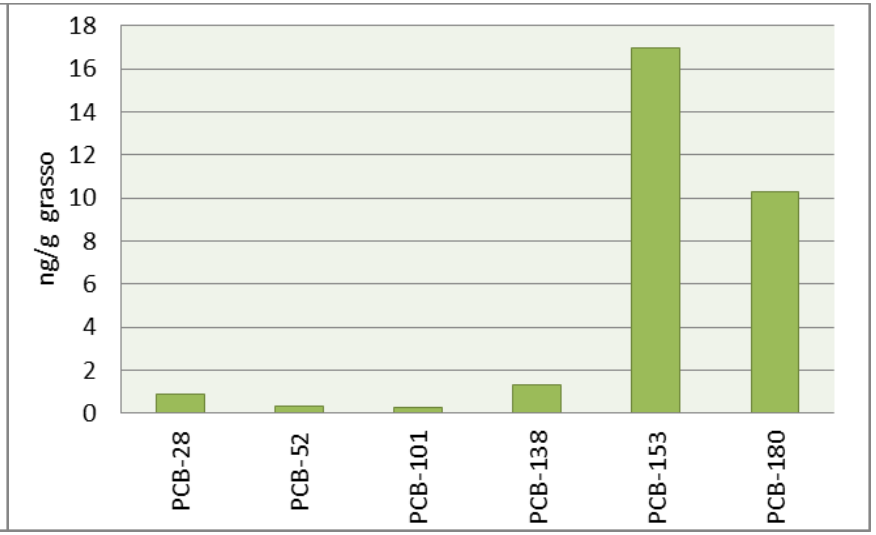
PCDD/F e PCB
Laboratorio Nazionale di Riferimento

Risultati: profili di contaminazione

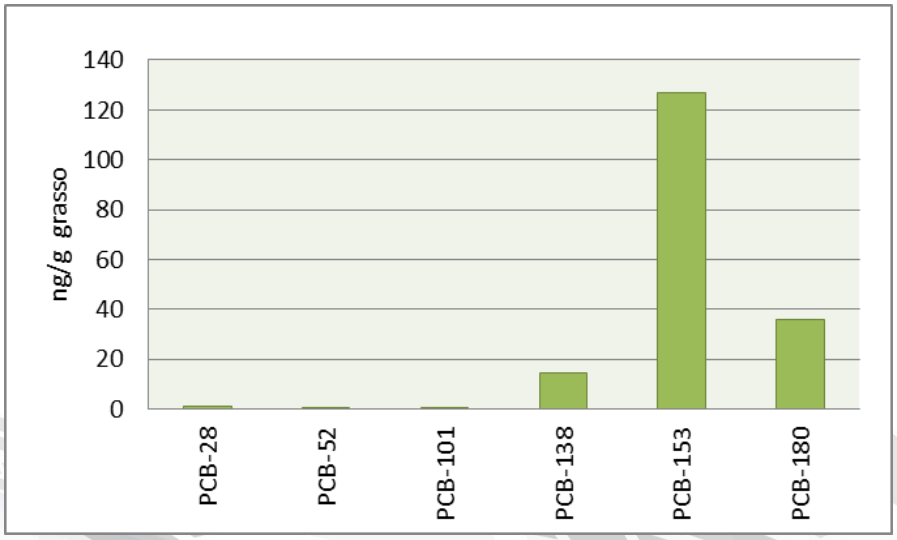
GRASSO



MUSCOLO



FEGATO



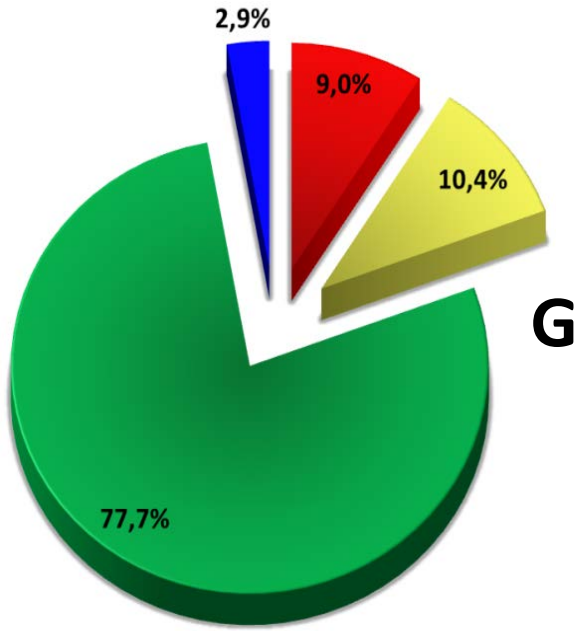
NDL-PCB

(Agnelli 3-8 mesi)

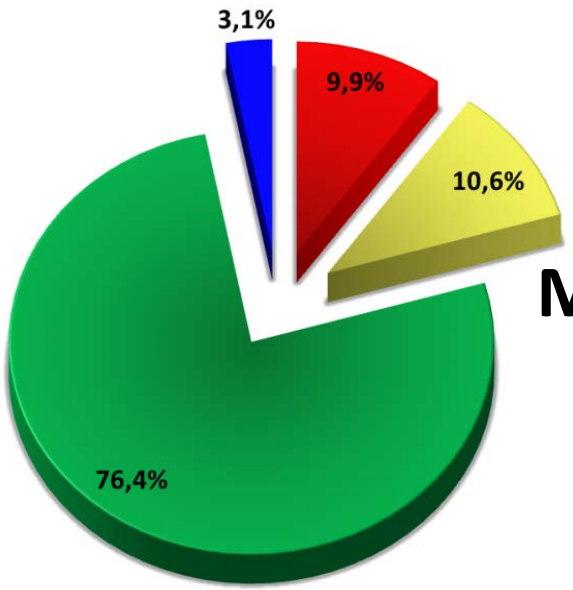
IZSAM G.CAPORALE TERAMO

PCDD/F e PCB
Laboratorio Nazionale di Riferimento

Risultati: contributo alla tossicità totale

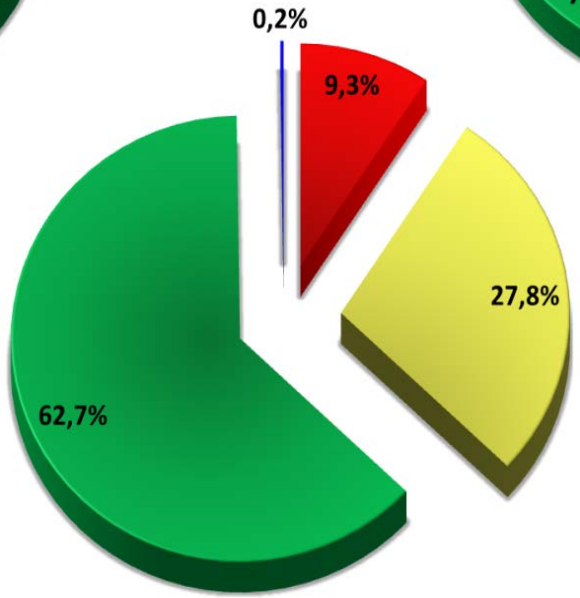


GRASSO



MUSCOLO

FEGATO



PCDD
PCDF
Non-orto-PCB
Mono-orto-PCB

Media tutti i campioni

IZSAM G.CAPORALE TERAMO

PCDD/F e PCB
Laboratorio Nazionale di Riferimento

Discussione

- Nei ruminanti il pascolo è il meccanismo principale di esposizione a diossine e PCB
  - assunzione involontaria di terreno depositato sulla vegetazione o ingerito dall'animale che si nutre di erba a poca distanza dal suolo
    - maggiore probabilità di venire a contatto con situazioni ambientali compromesse

IZSAM G.CAPORALE TERAMO

PCDD/F e PCB
Laboratorio Nazionale di Riferimento

Discussione

- L'arcata dentale stretta e ricurva rende questi animali capaci di brucare erba nelle immediate vicinanze del terreno

- I livelli di contaminazione nel fegato sono più alti rispetto a quelli del grasso e muscolo
  - Risultati simili in altri studi

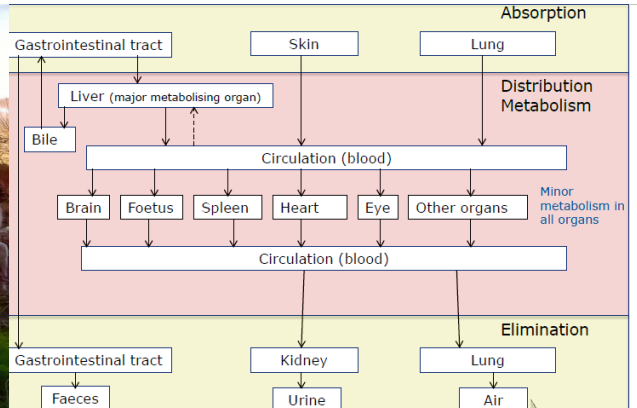
IZSAM G.CAPORALE TERAMO

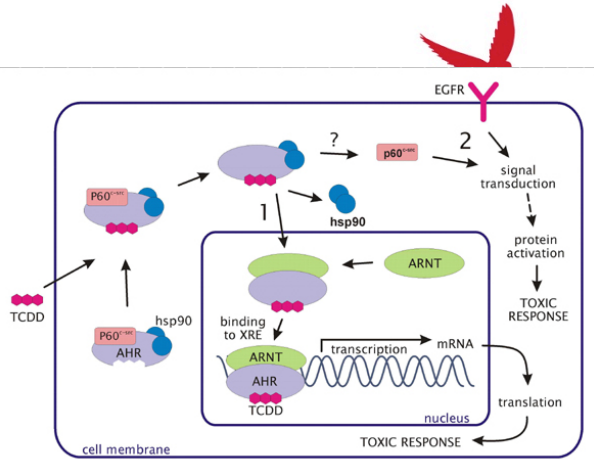
PCDD/F e PCB
Laboratorio Nazionale di Riferimento

Discussione

- L'accumulo di tali contaminanti nel fegato è legato alla sua funzione fisiologica

- I composti diossina-simili si legano con differente affinità ai recettori Arilici (AhR)
- Abbondanza di AhR nel fegato



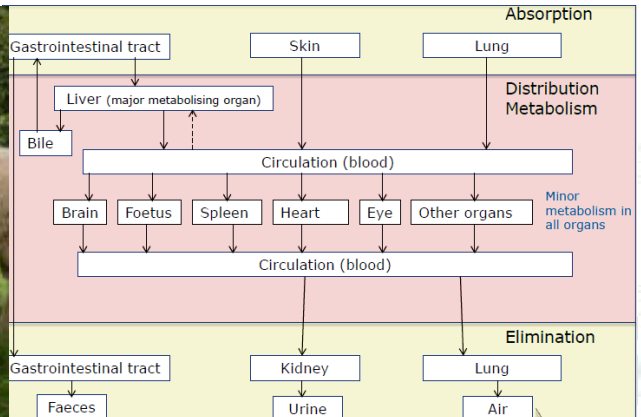


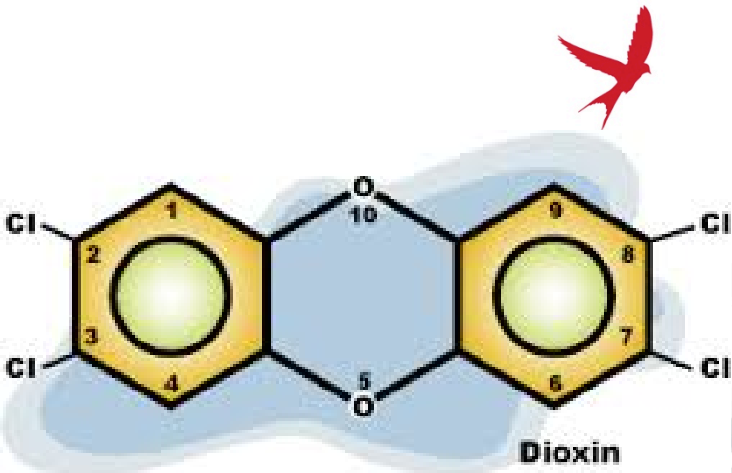
IZSAM G.CAPORALE TERAMO

PCDD/F e PCB
Laboratorio Nazionale di Riferimento

Discussione

- Il profilo di contaminazione è influenzato sia dalla differente abbondanza dei congeneri nell'ambiente sia dai meccanismi tossico-cinetici che coinvolgono questi composti una volta ingeriti dall'animale
  - es. i PCB ad alto grado di clorurazione (8-10 atomi di cloro) sono assorbiti meno facilmente dei congeneri a minor grado di clorurazione





IZSAM G.CAPORALE TERAMO

PCDD/F e PCB
Laboratorio Nazionale di Riferimento

Conclusioni

Livelli di contaminazione

- Alta variabilità tra i gruppi (età/n° parti) e tra le matrici (grasso/muscolo/fegato)
- Il fegato è la matrice più contaminata
- Grasso e muscolo presentano livelli di contaminazione simili

Conclusioni

Contributo alla tossicità totale (TEQ)

- Non-*ortho* PCB forniscono il maggior contributo al TEQ mentre il contributo dei mono-*ortho* PCB è scarso
- In tutte le matrici le PCDD forniscono un contributo simile al TEQ mentre il contributo dei PCDF è maggiore nel fegato rispetto al grasso e al muscolo

IZSAM G.CAPORALE TERAMO

PCDD/F e PCB
Laboratorio Nazionale di Riferimento

Conclusioni

- **Correlazioni**
  - Età degli animali *Vs* livelli di contaminazione – nessuna correlazione
  - Numero di parti *Vs* livelli di contaminazione – nessuna correlazione
- **Risultati preliminari**
- **Ulteriori analisi sono in corso**

DIOXIN MADRID 2014

34th International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants

WELCOME TO DIOXIN 2014!

Dear colleagues and friends,

On behalf of the Local Organizing Committee, it is a great pleasure to welcome you to the 34th International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants – Dioxin 2014 – to be held on 31st August to 5th September 2014, in Madrid, Spain. The venue, Hotel Meliá Castilla, located in one of the most dynamic and modern places of the city of Madrid will provide you with all the facilities for a successful experience.

KEY DATES

NEW! - 5 June 2014
Abstract submission closes

UTC

IZSAM G.CAPORALE
TERAMO

PCDD/F e PCB
Laboratorio Nazionale di Riferimento