

# LE API QUALI BIOINDICATORI AMBIENTALI A GARANZIA DI SALUBRITA' NEI PRODOTTI ALIMENTARI

## *BEE AS BIOINDICATORS TO GUARANTEE HEALTHY PRODUCTS FOR THE CONSUMER*

Brusa B., Guaraldo P., Palma A., Rinaldi G., Rosso A., Mogliotti P.  
Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d' Aosta: Sezione Asti e Centro  
Apistico .

### SUMMARY

Many investigators have employed honeybees or honeybee products as tools for assessing environmental pollution in industrial areas. The pollution in north-west Italy by insecticides used in crop protection, heavy metals and radioactivity has been investigated utilizing, as a bioindicator: honeybees, bee honey, wax, pollen produced in this area. Honeybees and honeybee products samples collected from 6 apiaries located in this area were analyzed for neonicotinoids residues with LC/MS method, pesticides organochlorines and organophosphates by GC-ECD and GC-NPD methods, PCB using GC-MS, radioactivity on  $^{137}\text{Cs}$  by  $\gamma$  spectrometer and heavy metals with atomic spectroscopy. The results show: 19 honeybee samples were positive on neonicotinoids (clothianidin) residues (total of 78 samples), no one sample was positive on pesticides organochlorines and organophosphates residues (total of 32 honeybee samples), the radioactivity levels were always below the instrumental limit determination, at last the heavy metal content (Pb, Cd, Cr) on 21 honey samples was favorable. This study indicates that in agricultural areas with developed apiculture, useful information about the occurrence and the distribution of pesticide residues due to crop protection treatments can be derived from the analysis of randomly collected honeybee products samples, used as bioindicators.

### KEYWORDS

Neonicotinoids, bee, bioindicator, LC/MS, GC-ECD, GC-NPD, GC-MS, radioactivity, heavy metals.

### INTRODUZIONE

Le api possono essere considerate ottimi bioindicatori ecologici in grado di fornire indicazioni sullo stato di salute dell'ambiente, dei mutamenti climatici e dei livelli di inquinamento delle aree in cui vivono, perciò sono utili per identificare e monitorare un'ampia quantità di contaminanti ambientali pericolosi per la salute umana (1).

Lo scopo di tale ricerca è stato il monitoraggio di alcuni tra gli agenti inquinanti ritenuti più pericolosi, grazie all'analisi di api vive e morte e dei loro prodotti, quali miele, polline e cera.

I parametri monitorabili di maggior interesse risultano essere:

1. Radionuclidi ( $^{137}\text{Cs}$ ): il polline è la matrice che risulta essere la migliore per indi-

care la contaminazione atmosferica da radionuclidi in quanto riflette fedelmente quella dell'aria (2).

2. Metalli pesanti (Pb, Cd e Cr): i metalli possono essere captati dalle api nell'atmosfera tramite il loro corpo peloso e portati nell'alveare insieme al polline, oppure assunti suggendo il nettare dei fiori, e/o alla melata degli afidi. Si pensa che la maggior contaminazione dell'area urbana e di quella industriale favorisca l'ingestione degli inquinanti (almeno per il piombo) nel corpo delle api rispetto all'area naturale.
3. Policlorobifenili: i cosiddetti inquinanti organici persistenti (POPs, Persistent Organic Pollutants), comprendono anche composti volatili come i policlorobifenili (PCB) e rappresentano una delle princi-

pali minacce alla salute degli ecosistemi e della salute umana (3).

4. Pesticidi: le api sono estremamente sensibili agli antiparassitari e ricerche condotte in Italia hanno accertato che i principi attivi rinvenuti nei campioni di api morte erano anche quelli più venduti nel territorio, a conferma dell'efficacia dell'ape come bioindicatore dei pesticidi (4).
5. Neonicotinoidi: i neonicotinoidi sono una classe di insetticidi che agiscono a livello del sistema nervoso fissandosi ai ricettori nicotinici dell'acetilcolina bloccando il passaggio degli impulsi nervosi con conseguente morte degli insetti. I principi attivi in commercio sono: Acetamiprid, Imidacloprid, Thiacloprid, Clothianidin e Thiamethoxam.

## MATERIALI E METODI

La ricerca si è sviluppata in 30 mesi attraverso un sistema di "bioindicatori" distribuiti opportunamente sul territorio. Il Servizio di Sanità Pubblica Veterinaria dell'ASL della provincia di Biella ha collocato 6 stazioni di monitoraggio, ognuna delle quali formate da due arnie, con all'interno api in buono stato di salute e sottoposte alle profilassi previste dai piani regionali territoriali nei confronti delle più comuni malattie (*varroasi* e *nosemiasi*). Gli alveari sono stati dotati di gabbie per la raccolta di api morte. Le matrici considerate sono state: ape viva o morta, miele, polline e cera su cui sono state effettuate le seguenti analisi :

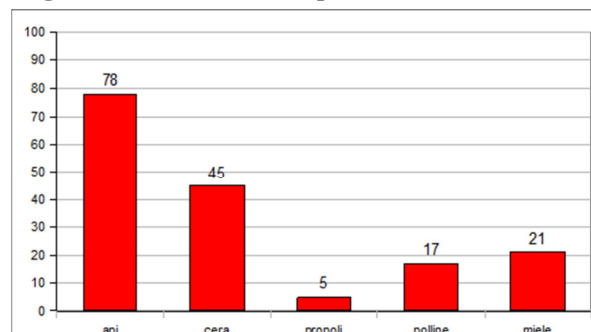
1. Radionuclidi: si è ricercata la radioattività totale  $\beta$  e  $\gamma$  di Cesio 137 ( $^{137}\text{Cs}$ ) in quanto è considerato il radionuclide residuale dovuto ad inquinamento nucleare. Il metodo utilizzato è stato la scintillazione liquida.
2. Metalli pesanti: la determinazione analitica per la ricerca di cadmio, piombo e cromo è stata condotta mediante spettrofotometria ad assorbimento atomico.
3. Pesticidi e Policlorobifenili: le tecniche utilizzate sono state: GC-ECD e GC-NPD per quanto riguarda pesticidi clorurati e fosforati, GC-MS per quanto riguarda la determinazione dei policlorobifenili.
4. Neonicotinoidi: per le analisi volte alla determinazione del contenuto in neonicotinoidi la tecnica strumentale è stata un cromatografo ad alte prestazioni con un rivelatore spettrometrico (5).

## RISULTATI

I campionamenti sono stati effettuati nell'inter-

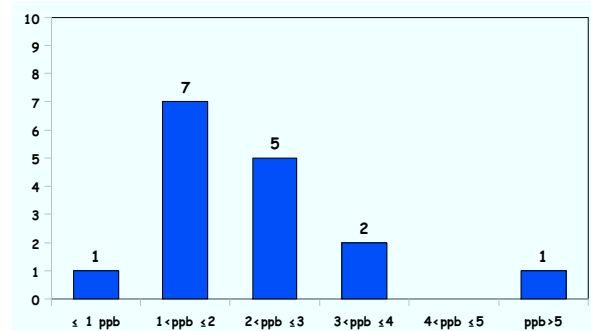
vallo marzo-novembre di ogni anno per la durata di 30 mesi, in numero di due prelievi mensili per ognuno degli alveari sentinella. Sono stati prelevati 166 campioni suddivisi in cinque categorie: api, cera, propoli, polline, miele. (Fig 1)

**Fig.1:** Matrici utilizzate per le analisi



- Per quanto concerne la determinazione e quantificazione di residui di neonicotinoidi mediante tecnica analitica cromatografia liquida spettrometria di massa (LC/MS), sono stati analizzati 78 campioni e per 19 di questi è stata riscontrata la presenza di Clothianidin, il cui range di concentrazione è risultato essere tra: 0,88 e 5,23  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . (Fig.2). In un solo campione si è rilevata la presenza di Thiacloprid. Per gli altri pesticidi (Imidacloprid, Thiamethoxan e Acetamiprid) è stata riscontrata assenza in tutti i campioni analizzati.

**Fig.2:** Range di concentrazione rilevata di clothianidin nelle api analizzate

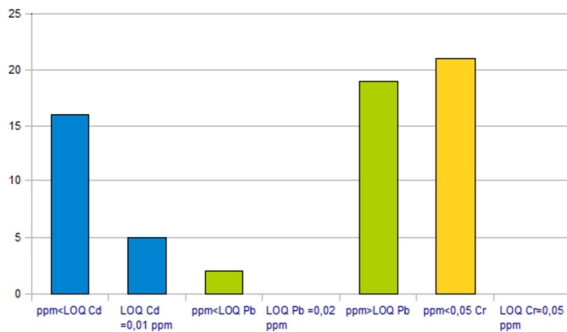


Il Decreto Ministeriale del 16/09/10 (G.U. del 18 settembre 2010) (6) ha prorogato la sospensione cautelativa dell'autorizzazione all'impiego per la concia di sementi dei prodotti fitosanitari contenenti le sostanze attive Clothianidin, Thiamethoxam Imidacloprid e Fipronil fino al 30/06/11. La presenza di numerosi campioni positivi nella zona a sud est di Biella (località Zubiena), zona a forte vocazione vinicola ove viene coltivato il vitigno erbaluce, farebbe supporre l'utilizzo di prodotti fitosanitari che sono permessi in viticoltura. Diverso discorso sono i tre campioni positivi identificati nell' areale di Bio-

glio, ove si suppone la presenza di colture nelle quali siano stati utilizzati i neonicotinoidi ma i dati in nostro possesso non ci permettono di indicarne la tipologia.

- Sono stati analizzati 32 campioni per la determinazione dei pesticidi clorurati, 14 per i pesticidi fosforati e 8 per i Poli-cloro-bifenili risultando tutti negativi.
- Per la determinazione dei metalli pesanti invece sono stati analizzati 21 campioni con i seguenti risultati: per il cromo tutti inferiori al LOQ (0.05 ppm); per quanto riguarda il cadmio sono risultati 5 campioni con valore uguale al LOQ (0,01 ppm); nel caso del piombo, invece, si è riscontrata la presenza in un numero maggiore di campioni (19) con concentrazione variabile (da un minimo di 0,03 mg/kg ad un massimo di 0,41 mg/kg) (Fig.3).

**Fig. 3:** concentrazione in ppm dei metalli pesanti analizzati con riferimento ai rispettivi LOQ (Pb, Cd, Cr).



Se consideriamo che Otto e Jekat (7) avevano indicato come limite massimo di piombo nel miele 0,215 mg/kg, si può osservare che solo un campione supera tale limite, quindi, escludendo una contaminazione accidentale del campione, tale valore potrebbe indicare una zona con una maggiore contaminazione da piombo rispetto alle altre zone di prelievo.

- Le analisi radiometriche sono state eseguite in spettrometria  $\gamma$  su 136 campioni di api e su 37 campioni di pollini.

Le concentrazioni di  $^{137}\text{Cs}$  riscontrate sono risultate inferiori rispetto al livello minimo determinabile calcolato dallo strumento.

## CONSIDERAZIONI E CONCLUSIONI

Questo studio ha indicato come l'uso e la distribuzione di pesticidi nell'ambiente, nella fattispecie i neonicotinoidi, può essere monitorato attraverso l'uso di bioindicatori come le api e i prodotti dell'alveare. È stato inoltre molto utile per l'individuazione della presenza di prodotti fitosanitari utilizzati sulle colture.

Altre fonti di inquinamento ambientale si sono rilevate essere al di sotto del limite di rilevanza strumentale, come ad esempio la determinazione della radioattività ambientale, ma può essere utile per monitorare piccole problematiche in campo nucleare che possono presentarsi, ad esempio incidenti che avvengono nelle centrali nucleari con fuoriuscita accidentale di materiale radioattivo.

Nei campioni analizzati per la ricerca di metalli pesanti non si è evidenziata una contaminazione ambientale da cadmio e cromo significativa, mentre la contaminazione da piombo si è manifestata a bassi livelli di concentrazione, a parte un campione con concentrazione di piombo elevata (0,41 ppm).

## BIBLIOGRAFIA

1. D'Ambrosio M.T., Accorti M., (eds) Atti del Convegno: "L'ape come Insetto Test dell'Inquinamento Agricolo" P.F "Lotta Biologica e Integrata per la Difesa delle Colture Agrarie e delle Piante Forestali", (1992). Ministero Agricoltura e Foreste, pp 15–20.
2. Tonelli D., Gattavecchia E., Ghini S., Porrini C., Celli G., Mercuri A.M., "Honey bees and their products as indicators of environmental radioactive pollution" in *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, (1990). 141(2): 427–436.
3. Alleva E., "Le specie sentinella, la valutazione ecotossicologica in ambiente montano", (1999). Istituto nazionale della montagna.
4. Celli G., Porrini C., "L'ape, un efficace bioindicatore dei pesticidi" in *L'ape nostra amica*.(1994). n. 5: 4 – 15.
5. Fidente P., Seccia S., Vanni F., Morrica P., "Analysis of nicotinoid insecticides residues in honey by solid matrix partition clean-up and liquid chromatography–electrospray mass spectrometry" in *Journal of Chromatography A*, vol. 1094, issue 1-2, 11 Novembre 2005, p. 175-178.
6. D.M.17/09/2008 (GU n° 221 del 20/09/08) che stabilisce la sospensione cautelativa dell'autorizzazione all'impiego per la concia di sementi dei prodotti fitosanitari contenenti le sostanze attive clothianidin, thiamethozam, imidacloprid e fipronil.
7. Otto K., Jekat F., "Experimentelle Untersuchungen über die Belastung eines Nahrungsmittels mit Rückständen von Blei, Zink, Cadmium", (1977). Ernährungs Umschau 24(4), 107.

## RINGRAZIAMENTI

Ricerca finanziata dal Ministero del Lavoro,

della Salute e delle Politiche Sociali; Dipartimento per la Sanità Pubblica Veterinaria, la Nutrizione e la Sicurezza degli Alimenti. Si ringraziano i colleghi dott.ssa Abete, dott.ssa Vivaldi, dott. Ferrari, dott. Cazzola e dott.ssa Balocchi dell'IZS PLVA per aver fattivamente

contribuito alle determinazioni analitiche ed i colleghi dott.ssa Felisari, dott. Miglietta e dott. Sala del Servizio Veterinario dell'ASL 12 di Biella per la loro importante collaborazione di lavoro di campo.