

# MONITORAGGIO DEL PIOMBO IN *MUGIL CEPHALUS* PROVENIENTI DAL MEDITERRANEO NORD-OCCIDENTALE

## *Lead monitoring in Mugil cephalus (North-West Mediterranean, Italy)*

Squadrone Stefania\*, Prearo Marino, Marchis Daniela, Gavinelli Stefania, Pellegrino Matteo, Tarasco Renata, Benedetto Alessandro, Brizio Paola, Abete Maria Cesarina

\*Corresponding author. Tel: (+39) 0112686238; Fax: (+39) 0112686228.

E-mail: stefania.squadrone@izsto.it

Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle D'Aosta, via Bologna 148, 10154 Torino, Italia.

## ABSTRACT

The concentrations of Lead (Pb) in muscles of flathead mullet (*Mugil cephalus*) collected from Bocca di Magra, La Spezia (Ligurian Sea, Mediterranean Sea, Italy), were determined after microwave digestion by atomic absorption spectrometry and electrothermal atomisation (ETA-AAS).

The average Pb concentration was 0.082 ppm and the levels varied in the following ranges: 0.020-0.240 ppm. None of the 63 tested samples exceeded the European regulatory limits fixed by 1881/2006/UE and 420/2011/UE. The estimated weekly intakes by humans were also evaluated for possible consumers healthy risks. Pb concentrations in fish muscles were in 59% of cases higher than Provisional Tolerable Weekly Intake (PTWI) set by JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives) in 1993 and corresponding to 0.025 mg/kg body weight.

In fact, in 37 out of 63 analysed samples the Pb level was higher than 0.06 mg/kg.

**Keywords:** Atomic absorption spectrometry, *Mugil cephalus*, Pb, PTWI.

## INTRODUZIONE

Il piombo è un metallo non essenziale ed un contaminante ubiquitario, i cui livelli ambientali hanno subito un incremento di più di 1000 volte negli ultimi tre secoli a causa delle attività antropiche, in particolare tra gli anni 50 e il 2000 (ATSDR, 2005). Le principali vie di esposizione per la popolazione sono l'alimentazione e l'aria. Una volta assorbito il piombo si accumula ad alte concentrazioni nelle ossa, nei denti, nel fegato, nei polmoni e nel cervello, attraversando sia la barriera emato-encefalica che quella placentare (Goyer *et al.*, 2001). L'emivita biologica del metallo è più lunga nei bambini che negli adulti, variando da circa 35 giorni nel sangue e nei tessuti molli fino a 20-30 anni nelle ossa (Papanikolaou *et al.*, 2005). Il consumo di pesce espone la popolazione a diversi contaminanti poiché i metalli vengono accumulati nei loro tessuti e specialmente nel muscolo.

*Mugil cephalus* è una specie locale consumata dalla popolazione italiana, in grado di vivere anche in ambienti inquinati: si ritrova infatti frequentemente all'interno dei porti. E' una specie

endemica non migratoria, perfetta come indicatore di inquinamento ambientale. Si nutre principalmente di detriti vegetali e piccoli invertebrati che ingoia rastrellando il fondale e le rocce coperte di alghe.

La Joint FAO/WHO Expert Committee sugli additivi alimentari ha stabilito una dose settimanale tollerabile, vale a dire le quantità cui l'uomo può essere esposto anche per tutta la vita senza andare incontro ad effetti tossici; per il piombo essa è pari a 0,025 mg/kg di peso corporeo (WHO, 1993).

Scopo del nostro lavoro è stato pertanto monitorare i livelli di piombo nelle porzioni edibili di *Mugil cephalus* per verificare se rispettassero i massimi livelli consentiti dalla normativa in vigore (1881/2006/UE e 420/2011/UE) e se l'esposizione della popolazione italiana coincidesse con il Provisional Tolerable Weekly Intake (PWTI) fissato dalla Joint FAO/WHO .

## MATERIALI E METODI

Bocca di Magra è un piccolo centro in provincia di La Spezia, nato come villaggio di pescatori, la cui

economia è rappresentata dalle tradizionali attività di pesca e dal turismo. Nel 2009 sono stati prelevati in questo distretto 63 campioni di cefali; il tessuto muscolare di ogni animale è stato analizzato per la ricerca di piombo.

Per la preparazione di tutte le soluzioni acquose è stata utilizzata acqua deionizzata (18.2 MXcm), Arium611VF system (Sartorius Stedim Italy S.p.A., Antella - Bagno a Ripoli, Firenze, Italy). Sono stati impiegati acidi ed ossidanti ( $\text{HNO}_3$  and  $\text{H}_2\text{O}_2$ ) Suprapure. Tutta la plastica e la vetreria utilizzata è stata immersa "overnight" in una soluzione di acido nitrico a 25% (v/v) e poi lavata con acqua ultrapura. L'accuratezza delle analisi è stata verificata con un materiale di riferimento certificato, NRCC-DORM-2 Dogfish muscle (National Research Council of Canada, Ottawa, Canada). Il recupero del piombo si è attestato su 103,67%. I campioni (15-2 g peso umido) sono stati pesati direttamente in vessels di Teflon PFA e, dopo l'aggiunta di 7 mL di acido nitrico (Suprapur, Merck, Darmstadt, Germany), mineralizzati con un sistema di digestione a microonde Ethos 1 (Milestone SrL, Sorisole, Bergamo, Italy). Una volta raffreddati sono stati diluiti con acqua ultrapura (Sartorius Stedim Italy S.p.A., Antella - Bagno a Ripoli, Firenze, Italy) fino ad un volume pari 25 mL.

Le rivelazioni strumentali sono state effettuate con uno spettrofotometro ad assorbimento atomico Perkin-Elmer Analyst 800 ad atomizzazione elettrotermica ed effetto Zeeman per la correzione del background. Le condizioni strumentali sono illustrate nella Tabella 1. Argon a purezza 99,998% è stato utilizzato come gas inerte.

La quantificazione è stata effettuata con il metodo delle aggiunte standard. Il limite di quantificazione del metodo (LOQ) è di 0,04 mg/kg. Tutte le analisi sono state condotte in duplicato e in ogni corsa è stato inserito un bianco per verificare che non vi fossero contaminazioni.

## RISULTATI

Nel muscolo di *Mugil cephalus* è stato riscontrato un contenuto medio di piombo di 0,082 mg/Kg (Tabella 2) con un valore minimo di 0,020 ppm e un valore massimo di 0,24 ppm, al di sotto del limite di 0,30 ppm fissato dalla normativa in vigore [Regolamenti (CE) n. 1881/2006 e 420/2011].

La letteratura concernente la concentrazione del piombo in muscolo di cefali del Mar Mediterraneo riporta in genere valori più bassi di quelli registrati in questo studio. Usero *et al.* (2003) ha riscontrato livelli di piombo tra 0,030 e 0,050 ppm in *Mugil cephalus* prelevati in varie regioni costiere della Spagna (Tabella 3).

La Commissione di esperti sugli additivi alimentari FAO/WHO ha fissato il PTWI per il piombo a 0,025 mg/kg per peso corporeo come assunzione settimanale, equivalente a 1,725 mg per settimana per un adulto di peso uguale a 70 Kg. Con-

siderando il consumo medio settimanale di pesce in Italia, pari a 441 g a persona (ISTAT, 2000), per un adulto di 70 kg l'apporto medio settimanale è uguale a 2,5 mg (441 g x 0,082 mg/1000 g), quindi superiore a quello raccomandato dalla Commissione FAO/WHO. Inoltre, poiché 37 campioni su 63 hanno concentrazioni superiori a 0,06 mg/kg, l'apporto del metallo nella dieta risulta nel 59% dei campioni più elevato di quello consigliato con il PTWI.

## DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

Il beneficio derivante dal consumo di pesce è dovuto all'alto valore nutritivo e al contenuto di acidi grassi omega-3, di cui sono noti gli effetti di protezione del sistema cardiovascolare. Tuttavia è necessario che i livelli di metalli tossici non eccedano i limiti di tolleranza previsti. L'accumulo di metalli da parte degli organismi marini è influenzato da diversi fattori intrinseci, come taglia, età, sesso, tasso di crescita, tipo di alimentazione, o estrinseci, come la concentrazione del metallo e la sua speciazione nelle acque, la salinità, la durezza e la temperatura (Pastor *et al.*, 1994).

L'accumulo di piombo nei tessuti dei pesci è stato sottolineato in diversi lavori; Has-Schon *et al.* (2006) ha dimostrato che il piombo si accumula in maniera simile nelle diverse specie eccetto nelle carpe dove si concentra in tutti i tessuti tranne nelle gonadi. Falcó *et al.* (2006) ha registrato concentrazioni di piombo tra 0,002 e 0,210 ppm, mentre uno studio effettuato su sei specie diverse di pesci del Mar Adriatico (Sepe *et al.*, 2003) non ha rilevato livelli di piombo tali da superare il PTWI. Concludendo, è necessario raccogliere informazioni sul possibile contenuto di metalli tossici nelle specie di pesce maggiormente utilizzate per il consumo umano in modo da ridurre il potenziale rischio dovuto all'ingestione di contaminanti; dovrebbe inoltre essere suggerito alla popolazione di diversificare il consumo di specie ittiche. In particolare la valutazione del PTWI, che tiene conto dell'esposizione a contaminanti tossici in relazione al consumo effettuato dalla popolazione locale, è di grande importanza nella valutazione di un potenziale rischio per i consumatori di specie ittiche di una determinata area, anche nel caso in cui i livelli del metallo rispettino la normativa in vigore. Nel 2010 è stato pubblicato un parere EFSA (Alexander *et al.*, 2010) che ha affermato che l'attuale PTWI di 0,025 mg/kg non è più adeguato poiché, basandosi su studi dose-risposta, si è visto che tale valore è associato ad una diminuzione di almeno 3 punti del quoziente di intelligenza (QI) nei bambini ed ad un aumento della pressione sistolica di circa 3mmHg negli adulti. Non è stato possibile stabilire un nuovo livello di riferimento, poiché non esiste una chiara soglia al di sotto della quale si possano escludere effetti avversi. L'EFSA ha quindi concluso che esistono potenziali preoccupazioni.

cupazioni, in particolare in merito a effetti sullo sviluppo neurologico nei feti, nei neonati e nei bambini, e che bisogna porre la massima attenzione nel prevenire questo tipo di esposizione per le fasce più sensibili della popolazione.

## BIBLIOGRAFIA

- Alexander J., Benford D., Boobis D., Ceccatelli S., Cravedi J.-P., Di Domenico A., Doerge D., Dogliotti E., Edler L., Farmer P., Filipič M., Fink-Gremmels J., Fürst P., Guerin T., Knutsen H.K., Machala H., Mutti A., Schlatter J., van Leeuwen R. Scientific opinion on lead in food. *The EFSA Journal* 8:1-147.
- ATSDR, 2005. Toxicological Profile for Lead. Agency for Toxic Substances and Disease Registry ed., Atlanta, GA, USA.
- Falcó G., Llobet J.M., Bocio A., Domingo J.L. 2006. Daily intake of arsenic, cadmium, mercury, and lead by consumption of edible marine species. *J. Agr. Food Chem.* 54:6106-6112.
- Goyer R.A., Clarksom W.T. 2001. Toxic effects of metals. In: K. Klaassen, Casarett and Doull's Toxicology. The basic science of poisons, pp. 811-867. McGraw-Hill, New York, NY, USA.
- Has-Schon E., Bogut I., Strelec I. 2006. Heavy metal profile in five fish species included in human diet, domiciled in the end flow of river Neretva (Croatia). *Arch. Environ. Con. Tox.* 50:545-551.
- ISTAT, I.N.d.S. 2000. Statistica sulla pesca, caccia e zootecnia. Informazione No. 94-2000 (Alba Grafica S.p.A., Roma).
- Papanikolaou N.C., Hatzidaki E.G., Belivanis S., Tzanakakis G.N., Tsatsakis A.M. 2005. Lead toxicity update. A brief review. *Med Sci Monitor.* 11:329-336.
- Pastor A., Hernández F., Peris M.A., Beltrán J., Sancho J.V., Castillo M.T. 1994. Levels of heavy metals in some marine organisms from the western Mediterranean area (Spain). *Mar. Pollut. Bull.* 28:50-53.
- Regolamento (CE) n. 1881/2006, della commissione del 19 dicembre 2006 che definisce i tenori massimi di alcuni contaminanti nei prodotti alimentari. *Gazzetta ufficiale dell'Unione europea, L 364 del 20.12.2006.*
- Regolamento (CE) n. 420/2011, della commissione del del 29 aprile 2011. che modifica il regolamento (CE) n. 1881/2006 che definisce i tenori massimi di alcuni contaminanti nei prodotti alimentari. *Gazzetta ufficiale dell'Unione europea, L 111 del 30.04.2011.*
- Sepe A., Ciaralli L., Ciprotti M., Giordano R., Funari E., Costantini S. 2003. Determination of cadmium, chromium, lead and vanadium in six fish species from the Adriatic Sea. *Food Addit. Contam.* 20:543-552.
- Usero J., Izquierdo C., Morillo J., Gracia I. 2004. Heavy metals in fish (*Solea vulgaris*, *Anguilla anguilla* and *Liza aurata*) from salt marshes on the southern Atlantic coast of Spain. *Environ. Int.* 29:949-956.
- WHO, 1993. Technical Report Series, No. 837 "Evaluation of certain food additives and contaminants". Forty-first report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, 56 pp. WHO Publ., Geneva.

**Tabella 1.** Condizioni strumentali per l'analisi del Piombo in Z-atomic absorption spectrometry and electrothermal atomisation (ETA-AAS).

Condizioni strumentali Pb			
Flusso di Argon (mL/min)	250		
Volume del campione (µL)	10		
Modificatore (µL)	6		
Lunghezza d'onda (nm)	283,3		
Fenditura (nm)	0,7		
	C°	Ramp time (s)	Hold time (s)
Drying 1	90	10	10
Drying 2	130	10	10
Pre-ashing	450	15	20
Ashing	850	15	20
Atomisation	1600	0	5
Cleaning	2500	1	5

**Tabella 2.** Analisi statistica su 63 campioni di muscolo di *Mugil cephalus*.

<b>Analisi statistica</b>	<b>Pb (mg/kg)</b>
Media	0,082
Mediana	0,080
Deviazione standard	0,046
Valore minimo	0,02
Valore massimo	0,240
Coefficiente di variazione (%)	56,00

**Tabella 3.** Contenuto di Pb (mg/kg) nel muscolo di *Mugil cephalus* provenienti dal Mar Mediterraneo.

<b>Valore medio</b>	<b>Regione di provenienza</b>
0,082	Bocca di Magra (La Spezia, Italy)
0,002	Bacuta (Spagna; Usero <i>et al.</i> , 2003)
0,002	Liebre (Spagna; Usero <i>et al.</i> , 2003)
0,003	San Carlos (Spagna; Usero <i>et al.</i> , 2003)
0,05	San Juan (Spagna; Usero <i>et al.</i> , 2003)

Non-commercial use only