

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI NAPOLI “FEDERICO II”

FACOLTÀ DI MEDICINA E CHIRURGIA

**DIPARTIMENTO DI MEDICINA PUBBLICA E DELLA SICUREZZA
SOCIALE**



**DOTTORATO DI RICERCA
AMBIENTE, PREVENZIONE E MEDICINA PUBBLICA
- XIX CICLO -**

TESI DI DOTTORATO

**VALUTAZIONE DELL'ESPOSIZIONE INFANTILE AGLI
IDROCARBURI POLICICLICI AROMATICI
ATTRAVERSO LA DIETA**

COORDINATORE:

CH.MO PROF. CLAUDIO BUCCELLI

RELATORE:

CH.MA PROF.SSA
RENATA AMODIO COCCHIERI

CANDIDATA:

DOTT.SSA PIERANGELA MAINARDI

ANNO ACCADEMICO 2006-2007

INDICE

Introduzione

| | |
|---------------------------------------------------------------|--------|
| Alimentazione e salute..... | pag.3 |
| Aspetti attuali degli inquinanti chimici negli alimenti | pag.7 |
| Gli Idrocarburi Policiclici Aromatici..... | pag.13 |
| Stato dell'arte e sviluppo della normativa sugli IPA..... | pag.25 |

Obiettivo e modalità di svolgimento dello studio

| | |
|----------------------------------------------------------|--------|
| Area di studio, popolazione e campionamento..... | pag.29 |
| Preparazione dei campioni ed analisi di laboratorio..... | pag.31 |

Risultati e Considerazioni

| | |
|-------------------------------|--------|
| Risultati e conclusioni | pag.34 |
| Bibliografia | pag.41 |

INTRODUZIONE

Alimentazione e salute

Dopo un iniziale riconoscimento scientifico legato alla scoperta dei principi alimentari e delle leggi fondamentali che presiedono ai processi vitali, l'alimentazione, soprattutto in questo secolo, è divenuta una vera scienza per la conoscenza più profonda delle correlazioni esistenti fra la dieta e lo stato di salute o di malattia. Essa, inoltre, ha notevolmente contribuito a far cambiare in maniera radicale il volto del mondo, le abitudini dell'uomo, la durata della vita e le garanzie di benessere e salute.

Qualsiasi organismo animale o vegetale per poter vivere, crescere e riprodursi deve disporre continuamente di energia. Per gli eterotrofi, l'uomo compreso, gli alimenti sono l'unica fonte di nutrienti utili per ricavare energia, costruire nuovi tessuti o riparare quelli vecchi, regolare le proprie funzioni e rinforzare i meccanismi di difesa.

L'uomo si nutre di una vasta gamma di alimenti che, una volta ingeriti, perdono rapidamente le loro caratteristiche peculiari, per trasformarsi tutti in poche categorie di nutrienti utilizzabili

dall'organismo.

I nutrienti presenti negli alimenti appartengono alle stesse classi di composti chimici che rientrano nella composizione del corpo umano: acqua, sali minerali, protidi, lipidi, glucidi, vitamine. Più la composizione molecolare degli alimenti è simile a quella della specie umana, con particolare riferimento alla componente proteica, più efficientemente vengono utilizzati dall'organismo.

Le scelte e le abitudini alimentari risentono di fattori culturali, economici, psicologici, sociali, emotivo-simbolici che influenzano in maniera determinante il modo di mangiare sia dal punto di vista qualitativo che quantitativo. In Italia i profondi cambiamenti degli ultimi decenni, hanno mutato radicalmente i costumi, trasformando alla base il modo di vivere; si è trattato di una vera e propria rivoluzione che ha coinvolto tutti gli aspetti della vita compresa l'alimentazione.

Dagli anni cinquanta ai nostri giorni, in Italia i consumi alimentari hanno subito profondi cambiamenti. Il passaggio da una società rurale ad una industriale ha modificato in modo sostanziale l'economia migliorando il tenore di vita della popolazione e conseguentemente modificando le abitudini alimentari. La scelta dei

prodotti è diventata così sempre più ampia per le innovazioni nel settore agricolo, dell'industria alimentare (frutta e verdura in tutte le stagioni, latte a lunga conservazione e con diverso tenore di grassi, ecc.) e per l'ingresso nel mercato di prodotti esteri comunitari e non (formaggi francesi e olandesi, insaccati tedeschi, frutti tropicali, ecc.).

Nel periodo del "boom economico" l'italiano medio raggiunge un benessere che si riflette sulle abitudini alimentari a tal punto che si verifica un vero rifiuto, più o meno consapevole, dei prodotti più tradizionali e meno cari (pasta, pane, legumi), a favore di quelli più "pregiati" (carne, burro, uova). Mangiare bene e molto diventa segno di un raggiunto benessere economico.

Successivamente l'ingresso della donna nel mondo del lavoro fa sì che pietanze più semplici e di rapida preparazione vadano a sostituire preparazioni culinarie ricche ed elaborate così che il pranzo possa lasciare il posto alla mensa o ad un veloce spuntino.

Alla fine degli anni settanta si verifica nuovamente un'inversione di tendenza caratterizzata dal desiderio di molti di riappropriarsi delle tradizioni gastronomiche, dei sapori e della genuinità di una volta; l'uomo è sempre più consapevole dei rischi connessi ad una errata alimentazione e da questo momento in

poi comincia col porre più attenzione alla cura del proprio corpo. Si verifica così un ritorno ai cibi poveri e semplici della dieta mediterranea: ne consegue quindi un aumento del consumo di latte, formaggi, uova ed anche dei cereali e derivati. Comincia col diffondersi in maniera dilagante l'idea che per l'individuo il mantenimento di uno stato di salute buono per un tempo sufficientemente lungo sia realizzabile seguendo una dieta quanto più equilibrata possibile.

Mangiare correttamente significa tenere conto di tutta una serie di fattori che riguardano i fabbisogni energetici dell'individuo, il valore nutritivo degli alimenti, i cambiamenti a cui gli stessi vanno incontro in seguito alla conservazione ed ai processi di cottura.

Navigare nel vasto mare dei consumi alimentari, seguendo il giusto orientamento senza farsi incantare dalle sirene della pubblicità, risulta difficile: consumare consapevolmente diventa un obiettivo da perseguire attraverso l'educazione del cittadino, in quanto scelte sbagliate possono incidere negativamente sul piano economico, ma soprattutto riflettersi in modo anche grave sulla salute dell'uomo (7).

Aspetti attuali degli inquinanti chimici negli alimenti

L'aumento numerico della popolazione mondiale ha trovato un limite preciso nell'entità delle risorse alimentari. Come per tutti gli organismi viventi, anche per l'uomo esiste un rigoroso rapporto tra la popolazione e le risorse ambientali. Per quasi due miliardi di anni l'uomo ha vissuto da carnivoro predatore ed erbivoro. Successivamente, con la domesticazione dei vegetali e degli animali, l'uomo è intervenuto in modo attivo ed incisivo sull'ambiente determinando un potenziamento delle risorse alimentari. Con il trascorrere del tempo l'aumento demografico che ne è conseguito ha cominciato ad esercitare una maggiore pressione sulle riserve alimentari, costringendo l'uomo a modificare ulteriormente la biosfera per soddisfare il proprio fabbisogno.

Nella continua ricerca di nuovo cibo l'uomo ha forzato oltre misura la biosfera che oggi presenta segni visibili di stress e di usura: un'agricoltura orientata all'impiego sempre più vasto di sostanze chimiche ha prodotto nella biosfera alterazioni di dimensioni planetarie che hanno cominciato a vanificare gli sforzi che l'uomo compie di continuo al fine di potenziare le sue fonti di nutrimento.

La moderna agricoltura si è affidata, tra l'altro, al controllo

chimico dei parassiti animali e vegetali, che se da un lato ha contribuito nettamente alla capacità della terra di sostenere gli esseri umani, dall'altro ha turbato profondamente i normali cicli biosferici (3).

Gli agenti chimici di importanza epidemiologica sono numerosi; oltre a quelli "naturali" che si originano direttamente dall'ambiente (ad esempio il piombo e il selenio) in zone ricche di tali elementi, esistono quelli derivati da attività tradizionali dell'uomo (l'ossido di carbonio e gli idrocarburi policiclici aromatici che derivano da processi di combustione incompleta), quelli derivanti dalla lavorazione dei prodotti naturali (i metalli, il carbon fossile, il petrolio) e dai processi di sintesi. Questi ultimi, ed in modo particolare i composti chimici organici, rappresentano oggi il maggiore problema poiché sono numerosissimi e dotati di una tossicità provata per l'uomo o fondamentalmente presunta in base a ricerche tossicologiche sugli animali.

Molti di tali composti si ritrovano in matrici ambientali (acqua, suolo, alimenti) in quanto i contaminanti atmosferici vengono veicolati al suolo e alle acque superficiali dalle precipitazioni e dai fenomeni di solubilizzazione. Dall'aria e dai sistemi idrogeologici

l'inquinamento si trasferisce ai diversi livelli dei sistemi biotici, parte rilevante dei quali costituisce il complesso degli alimenti indispensabili all'uomo.

Il destino dei contaminanti ambientali è in relazione a vari fattori:

- la reattività chimica e biochimica, la capacità di reagire con altri prodotti naturali o contaminanti, la stabilità e persistenza ambientale;
- il bioaccumulo in organismi vegetali e animali;
- la biotrasformazione, cioè la capacità di dare prodotti più pericolosi di quelli originari per effetto di azioni biochimiche di organismi viventi.

In effetti i contaminanti più pericolosi sono quelli persistenti e bioaccumulabili i cui effetti diminuiscono scarsamente con il tempo e con la diluizione.

I contaminanti chimici ambientali hanno la possibilità di determinare effetti fisiopatologici penetrando nell'organismo attraverso diverse vie: quella inalatoria quando sono aerodispersi come particolato, gas o vapori; per ingestione, quando siano presenti in acqua, alimenti o bevande (6).

Una volta penetrato nell'organismo, il destino di ogni composto chimico, ovvero la sua tossicocinetica, dipende dalla

percentuale di assorbimento, dalle modalità di trasporto, dal tipo di metabolismo, di accumulo in organi o tessuti e dal tipo di eliminazione. L'azione dei tossici non viene esercitata ugualmente su tutti gli organi ma soprattutto su quelli dove avviene una attiva metabolizzazione o un bioaccumulo: tali organi sono spesso definiti come organi bersaglio.

Diversi composti organici (DDT, PCB, diossine o composti organometallici), a causa della loro insolubilità nell'acqua e della loro elevata liposolubilità, si concentrano negli organi e tessuti più ricchi di lipidi (ma anche nelle componenti lipidiche delle cellule come le membrane cellulari) nei quali vengono lentamente metabolizzati.

Negli ultimi trent'anni la contaminazione chimica ha assunto un notevole rilievo in conseguenza dell'aumentata diffusione o concentrazione nell'ambiente di sostanze chimiche nocive e dall'impiego di numerose sostanze organiche artificiali di cui spesso non è stato sufficientemente chiarito l'eventuale potere tossico nei confronti dell'uomo. Tra tutte queste sostanze quelle che hanno la possibilità di raggiungere gli animali (soprattutto attraverso l'acqua e i vegetali) assumono una notevole importanza per la contaminazione dei prodotti alimentari destinati all'uomo, specialmente se possono

accumularsi nei tessuti animali (in particolare nelle frazioni lipidiche che hanno un periodo metabolico molto lungo) a causa della loro solubilità o per il fatto che il tempo di eliminazione è più lungo di quello intercorrente tra le varie assunzioni. Lo stato di degradazione ambientale può senza dubbio essere considerato una delle principali cause di contaminazioni chimiche degli alimenti, che non possono essere definite accidentali per il semplice fatto che quando si diffondono certe sostanze nell'ambiente è prevedibile che prima o poi entrino nella catena alimentare dell'uomo.

La presenza di sostanze chimiche contaminanti negli alimenti può indurre nel consumatore conseguenze diverse e comunque sostanzialmente riconducibili a:

- effetti tossici e stati abnormi;
- danni a carico del DNA.

I primi si manifestano in modo vario, talvolta con sintomi acuti (ma difficilmente, perché in tal caso la concentrazione della sostanza nei tessuti animali dovrebbe essere così elevata da aver provocato già nell'animale una evidente sintomatologia), più spesso con fenomeni cronici, che non sempre consentono di stabilire un preciso nesso tra causa ed effetto.

I secondi possono essere all'origine di mutamenti genetici, di tumori e di anomalie fetali, tutti effetti che si manifestano solo dopo lungo tempo o addirittura in generazioni successive.

Il vero e grave problema delle contaminazioni chimiche degli alimenti consiste, pertanto, nella difficoltà di stabilire la reale incidenza di alcune sostanze sulla salute dell'uomo perché ciò è possibile solo usufruendo di ampi dati statistici che consentono di comprendere le correlazioni esistenti tra la patologia di una determinata popolazione (di cui devono essere considerate varie generazioni), le sue abitudini alimentari ed i tipi di contaminazioni a cui gli alimenti sono soggetti (13).

Gli Idrocarburi Policiclici Aromatici

Gli Idrocarburi Policiclici Aromatici (IPA) sono una classe di composti organici contenenti anelli benzenici condensati (Figura 1) dalla comprovata attività carcinogena e mutagena sia in animali da laboratorio che nell'uomo in base ad osservazioni epidemiologiche.

Dotati di notevole solubilità in fase lipidica, gli IPA sono capaci di bioconcentrarsi lungo la catena alimentare, favoriti dai fattori meteorologici in grado di determinare il trasferimento al suolo ed all'acqua e conseguentemente su frutta e vegetali. Nella loro formazione e distribuzione negli alimenti non vanno trascurate modalità di cottura come la grigliatura, l'affumicatura e la tostatura, che ne determinano l'aumento dei livelli di fondo.

Fin dagli anni '90, alcuni IPA sono stati definiti dall'EPA (Environmental Protection Agency) "priority pollutants", vale a dire sostanze meritevoli di valutazione e monitoraggio specifici, soprattutto in riferimento alla tossicità cronica ed alla cancerogenicità, probabile o possibile (28). A tal proposito lo IARC ha identificato e riconosciuto un numero di 12 IPA come sicuramente carcinogenici per l'uomo (16). Allo stato attuale l'U.E ha introdotto già dal 2005 nuovi limiti, in risposta ai problemi di contaminazione sugli alimenti

basati su dati raccolti dagli Stati Membri Europei e in base ad una valutazione fatta dal Comitato Scientifico sugli alimenti (SCF) nel 2002; in particolare l'SCF prende in esame 33 IPA ed identifica un numero di 15 con requisiti genotossici e carcinogenici (13, 17).

In generale, la maggiore o minore quantità di IPA riscontrabili in una derrata alimentare dipendono dalla loro stabilità agli agenti chimico-fisici, dalla capacità di solubilizzarsi nei lipidi, di bioconcentrarsi lungo la catena alimentare, mentre gli effetti di danno all'organismo umano, di tipo acuto o cronico, dipendono dalla concentrazione, dal grado di tossicità specifica di ogni sostanza e dalle interazioni che si possono instaurare durante i fenomeni di assorbimento e metabolizzazione.

La letteratura internazionale per lungo tempo ha sottovalutato il problema inerente la presenza di IPA negli alimenti, indirizzando prevalentemente l'attenzione all'esposizione lavorativa o derivante dall'inquinamento atmosferico. Oggi numerosi dati sono disponibili sulla cancerogenità respiratoria mentre l'esposizione alimentari agli IPA risulta ancora poco indagata nonostante essa costituisca una via espositiva per nulla trascurabile (4, 18, 29). In Italia è stata valutata l'assunzione media di IPA attraverso la dieta di 3 $\mu\text{g}/\text{giorno}$ nella popolazione adulta, significativamente superiore all'introito

respiratorio di 370 ng/giorno anche quando si vive nelle zone ad alto tasso di inquinamento (17). Livelli elevati sono stati trovati in carne e pesci affumicati (200 $\mu\text{g}/\text{Kg}$), in carne arrostita al barbecue (130 $\mu\text{g}/\text{Kg}$), mentre in alimenti crudi i valori medi riscontrati variano da 0.01 a 1 $\mu\text{g}/\text{Kg}$.

Alla luce di quanto sopra brevemente enunciato ed in considerazione del fatto che il rischio per la salute umana è strettamente connesso alla dose di esposizione, il Dipartimento di Scienze Mediche Preventive dell'Azienda Universitaria Policlinico "Federico II" in collaborazione con il Dipartimento di Scienza degli Alimenti – Sezione di Microbiologia Agraria, Alimentare, Ambientale e di Igiene della Facoltà di Agraria "Federico II" ha ritenuto interessante implementare uno studio atto a valutare l'esposizione infantile agli IPA attraverso la valutazione del loro contenuto nella dieta. Sono stati scelti i "bambini" come categoria in quanto considerati più sensibili e suscettibili degli effetti dell'esposizione, poiché hanno un metabolismo più alto, un sistema immunitario meno sviluppato ed adottano modelli di attività e comportamento differenti rispetto agli adulti.

Figura 1. Principali Idrocarburi Policiclici Aromatici secondo l'UE

| Common name | CAS name | CAS Registry No. | Abbreviation |
|---------------------------------|---------------------------------------|------------------|--------------|
| Acenaphthene | Acenaphthylene | 83-32-9 | AC |
| Acenaphthylene | Acenaphthylene, 1,2-dihydro- | 208-96-8 | ACL |
| Anthanthrene | Dibenzo[<i>def,mno</i>]chrysene | 191-26-4 | ATR |
| Anthracene | Anthracene | 120-12-7 | AN |
| Benz[<i>a</i>]anthracene | Benz[<i>a</i>]anthracene | 56-55-3 | BaA |
| Benzo[<i>a</i>]fluorene | 11 H-Benzo[<i>a</i>]fluorene | 238-84-6 | BaFL |
| Benzo[<i>b</i>]fluorene | 11 H-Benzo[<i>b</i>]fluorene | 243-17-4 | BbFL |
| Benzo[<i>b</i>]fluoranthene | Benz[<i>e</i>]acephenanthrylene | 205-99-2 | BbFA |
| Benzo[<i>ghi</i>]fluoranthene | Benzo[<i>ghi</i>]fluoranthene | 203-12-3 | BghiF |
| Benzo[<i>j</i>]fluoranthene | Benzo[<i>j</i>]fluoranthene | 205-82-3 | BjFA |
| Benzo[<i>k</i>]fluoranthene | Benzo[<i>k</i>]fluoranthene | 207-08-9 | BkFA |
| Benzo[<i>ghi</i>]perylene | Benzo[<i>ghi</i>]perylene | 191-24-2 | BghiP |
| Benzo[<i>c</i>]phenanthrene | Benzo[<i>c</i>]phenanthrene | 195-19-7 | BcPH |
| Benzo[<i>a</i>]pyrene | Benzo[<i>a</i>]pyrene | 50-32-8 | BaP |
| Benzo[<i>e</i>]pyrene | Benzo[<i>e</i>]pyrene | 192-97-2 | BeP |
| Chrysene | Chrysene | 218-01-9 | CHR |
| Coronene | Coronene | 191-07-1 | COR |
| Cyclopenta[<i>cd</i>]pyrene | Cyclopenta[<i>cd</i>]pyrene | 27208-37-3 | CPP |
| Dibenz[<i>a,h</i>]anthracene | Dibenz[<i>a,h</i>]anthracene | 53-70-3 | DBahA |
| Dibenzo[<i>a,e</i>]pyrene | Naphtho[1,2,3,4- <i>def</i>]chrysene | 192-65-4 | DBaeP |
| Dibenzo[<i>a,h</i>]pyrene | Dibenzo[<i>b,def</i>]chrysene | 189-64-0 | DBahP |
| Dibenzo[<i>a,i</i>]pyrene | Benzo[<i>rst</i>]pentaphene | 189-55-9 | DBaiP |
| Dibenzo[<i>a,l</i>]pyrene | Dibenzo[<i>def,p</i>]chrysene | 191-30-0 | DBalP |
| Fluoranthene | Fluoranthene | 206-44-0 | FA |
| Fluorene | 9H-Fluorene | 86-73-7 | FL |
| Indeno[1,2,3- <i>cd</i>]pyrene | Indeno[1,2,3- <i>cd</i>]-pyrene | 193-39-5 | IP |
| 5-Methylchrysene | Chrysene, 5-methyl- | 3697-24-3 | 5-MCH |
| 1-Methylphenanthrene | Phenanthrene, 1-methyl- | 832-69-9 | 1-MPH |
| Naphthalene | Naphthalene | 91-20-3 | NA |
| Perylene | Perylene | 198-55-0 | PE |
| Phenanthrene | Phenanthrene | 85-01-8 | PHE |
| Pyrene | Pyrene | 129-00-0 | PY |
| Triphenylene | Triphenylene | 217-59-4 | TRI |

Le fonti stazionarie sono responsabili approssimativamente del 90% delle emissioni totali annuali di IPA, il rimanente 10% è prodotto

dalle fonti mobili (5).

Gli IPA con più di quattro anelli benzenici non permangono a lungo nell'atmosfera come molecole gassose in quanto tendono rapidamente a condensarsi ed a venir adsorbite alla superficie delle particelle di fuliggine e di cenere che così passano nei polmoni mediante la respirazione.

Gli IPA contenenti quattro anelli, o un numero inferiore, una volta immessi nell'atmosfera rimangono in forma gassosa. Il loro periodo di emivita è condizionato da fattori meteorologici che ne determinano un trasferimento al suolo ed all'acqua, con conseguente contaminazione della catena alimentare (29).

Se da un lato l'inquinamento atmosferico risulta la principale fonte di contaminazione alimentare da IPA, con particolare riguardo a frutta e verdura, dall'altro un grosso contributo alla loro formazione e distribuzione negli alimenti è fornito da alcuni processi tecnologici, quali l'affumicatura, la tostatura, l'idrogenazione dei grassi ed in genere le metodiche di cottura, anche e soprattutto artigianali, che contribuiscono all'aumento del livello basale di IPA negli alimenti in virtù anche della loro natura spiccatamente lipofilica. Infatti gli alimenti di origine animale sono originariamente privi di IPA, a

meno che non vengano contaminati durante taluni processi di preparazione (10, 24, 29).

E' ben documentato che la grigliatura degli alimenti così come l'affumicatura può portare alla formazione di IPA, alcuni dei quali sono potenti carcinogeni. Studi sulla carne grigliata sui carboni hanno evidenziato che i livelli di IPA sono strettamente connessi al contenuto in grassi ed alla maggiore o minore distanza della carne dalla fonte di calore. Infatti, i grassi che si disciolgono durante la cottura sgocciolano sui carboni caldi vengono decomposti e conseguentemente danno origine alla formazione di IPA che si depositano sulla superficie della carne veicolati dal fumo che si sviluppa (19).

In alcune popolazioni della Nigeria o dei Paesi Baltici l'elevata incidenza di cancro allo stomaco è stata messa in relazione al largo consumo di pesce affumicato mediante processi artigianali di combustione. In realtà anche se le carni ed il pesce sono affumicati, non necessariamente contengono quantità di IPA sufficienti a costituire un rischio per la salute umana. Allorquando proviene da acque contaminate il pesce non processato contiene basse concentrazioni di IPA in quanto è capace di

metabolizzarlo rapidamente. Normalmente il pesce affumicato contiene quantità di BaP comprese tra 0,1 e 0,5 ppb, ma ovviamente questo valore può aumentare in seguito ai processi di affumicatura (25).

In Svezia è stato calcolato che la dose media degli IPA pericolosi per la salute è di 1,2 mg/anno e che il contributo di carne e pesce affumicati è solo del 10% di questa dose mentre il rimanente è dovuto all'inquinamento ambientale ed al fumo di tabacco. Tuttavia l'affumicamento diretto a temperature elevate può determinare la formazione di grosse quantità di IPA. Alla luce di ciò in molti Paesi oggi l'affumicamento a livello industriale è eseguito in tempi relativamente brevi ed inoltre molti prodotti vengono successivamente lavati per ridurre al minimo il contenuto di particelle che possono contenere sostanze pericolose (10).

Studi effettuati nel Regno Unito ed in altri Paesi hanno dimostrato che la più alta quantità di IPA cancerogeni non proviene dalle carni o dal pesce grigliato o affumicato ma dai cereali, dai grassi e dagli oli (10).

Diversi autori hanno evidenziato la presenza di IPA nelle sostanze grasse ed hanno suggerito, tra le ipotesi relative

all'origine di tali contaminanti, i processi di essiccamento dei semi per esposizione diretta ai fumi di combustione e la contaminazione da solventi nella fase di estrazione. Studi condotti sull'olio di cocco greggio hanno dimostrato l'elevato contenuto di IPA (2600-4600 ppb) e che tale valore si riduce di cento volte in seguito al processo di raffinazione. Gli oli di oliva greggi (extravergine e lampante) possono contenere quantità di IPA comprese tra 54 ppb e 110 ppb (24).

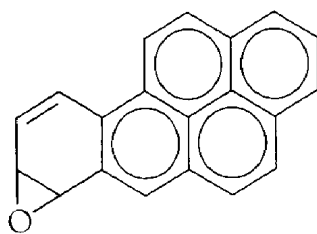
Sebbene esistano numerose differenze nell'alimentazione tra i paesi del Sud e del Nord Europa, si è visto che anche in Italia il contributo maggiore all'ingestione di IPA deriva principalmente da cereali, frutta e verdura; livelli di IPA relativamente alti sono stati trovati nella pizza e nelle carni arrostiti (27).

Gli IPA sono considerati possibili fattori eziologici del cancro intestinale e dello stomaco. In particolare il Benzo(a)pyrene (BaP) è spesso utilizzato come indicatore della loro possibile presenza ed indice quantitativo dei composti cancerogeni negli alimenti (19).

La ricerca scientifica ha dimostrato che le molecole di IPA non sono di per sé agenti cancerogeni; esse devono andare incontro a trasformazioni, attraverso varie reazioni metaboliche che avvengono nell'organismo, prima che si producano tipi di molecole realmente

cancerogene. La prima trasformazione chimica che avviene nel corpo umano è la formazione di un anello di epossido a livello di un legame C=C dell'IPA (Figura 2).

Figura 2 .



Successivamente ac ssido

si aggiunge H₂O, con formazione di due gruppi –OH sui due atomi di carbonio adiacenti (Figura 3).

Figura 3.

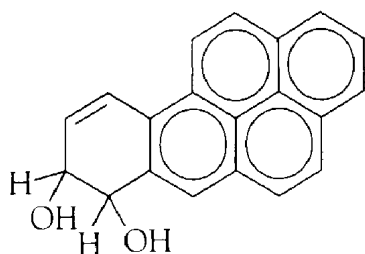
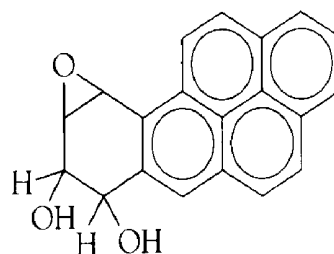


Figura 4.



–OH subisce un ulteriore processo di epossidazione, producendo così una molecola che rappresenta il cancerogeno attivo (Figura 4).

L'aggiunta di H⁺ determina la formazione di un catione particolarmente stabile in grado di legarsi a molecole come il

DNA, provocando mutazioni e cancro. Le reazioni metaboliche di formazione dell'eossido e l'aggiunta di H₂O fanno parte dei tentativi dell'organismo di introdurre gruppi -OH nelle molecole idrofobe quali gli IPA al fine di renderle più idrosolubili e quindi facilmente eliminabili (4).

La IARC (International Agency for Research on Cancer) sulla base della maggiore o minore disponibilità di dati relativi ad animali di laboratorio ha stilato un elenco (Tabella 1) di IPA cancerogeni (11).

Tabella 1. Valutazione della genotossicità e carcinogenicità dei singoli Idrocarburi Policiclici Aromatici secondo lo IARC.

| common name (CAS no.) | genotoxicity (this opinion) | carcinogenicity (IPCS, 1998) ^a | carcinogenicity (IARC, 1987) ^b | carcinogenicity (EC, 2001c) ^c |
|-----------------------------------------------|--------------------------------|----------------------------------------------|----------------------------------------------|---------------------------------------------|
| acenaphthene (83-32-9) | inadequate data | questionable | | |
| acenaphthylene (208-96-8) | inadequate data | no studies | | |
| anthanthrene (191-26-4) | limited evidence | positive | | |
| anthracene (120-12-7) | not genotoxic | negative | | |
| benz[<i>a</i>]anthracene (56-55-3) | genotoxic | positive | 2A | cat. 2 |
| benzo[<i>b</i>]fluoranthene (205-99-2) | genotoxic | positive | 2B | cat. 2 |
| benzo[<i>j</i>]fluoranthene (205-82-3) | genotoxic | positive | 2B | cat. 2 |
| benzo[<i>k</i>]fluoranthene (207-08-9) | genotoxic | positive | 2B | cat. 2 |
| benzo[<i>ghi</i>]fluoranthene (203-12-3) | limited evidence | negative ? | | |
| benzo[<i>a</i>]fluorene (238-84-6) | probably not genotoxic | questionable | | |
| benzo[<i>b</i>]fluorene (243-17-4) | inadequate data | questionable | | |
| benzo[<i>ghi</i>]perylene (191-24-2) | genotoxic | negative ? | 3 | |
| benzo[<i>c</i>]phenanthrene (195-19-7) | limited evidence | positive ? | 3 | |
| benzo[<i>a</i>]pyrene (50-32-8) | genotoxic | positive | 2A | cat. 2 |
| benzo[<i>e</i>]pyrene (192-97-2) | equivocal | questionable | | cat. 2 |
| chrysene (218-01-9) | genotoxic | positive | 3 | cat. 2 |
| coronene (191-07-1) | inadequate data | questionable | | |
| cyclopenta[<i>cd</i>]pyrene (27208-37-3) | genotoxic | positive | 3 | |
| dibenz[<i>ah</i>]anthracene (53-70-3) | genotoxic | positive | 2A | cat. 2 |

Tabella 1. Valutazione della genotossicità e carcinogenicità dei singoli Idrocarburi Policiclici Aromatici secondo lo IARC.

| common name (CAS no.) | genotoxicity (this opinion) | carcinogenicity (IPCS, 1998) ^a | carcinogenicity (IARC, 1987) ^b | carcinogenicity (EC, 2001c) ^c |
|-----------------------------------------------|--------------------------------|----------------------------------------------|----------------------------------------------|---------------------------------------------|
| dibenzo[<i>a,e</i>]pyrene (192-65-4) | genotoxic | positive | 2B | |
| dibenzo[<i>a,h</i>]pyrene (189-64-0) | genotoxic | positive | 2B | |
| dibenzo[<i>a,i</i>]pyrene (189-55-9) | genotoxic | positive | 2B | |
| dibenzo[<i>a,l</i>]pyrene (191-30-0) | genotoxic | positive | 2B | |
| fluoranthene (206-44-0) | equivocal | positive ? | | |
| fluorene (86-73-7) | inadequate data | negative | | |
| indeno[1,2,3- <i>cd</i>]pyrene (193-39-5) | genotoxic | positive | 2B | |
| 5-methylchrysene (3697-24-3) | genotoxic | positive | 2B | |
| 1-methylphenanthrene (832-69-9) | limited evidence | negative ? | | |
| naphthalene (91-20-3) | probably not genotoxic | questionable | | |
| perylene (198-55-0) | limited evidence | negative ? | 3 | |
| phenanthrene (85-01-8) | equivocal | questionable | 3 | |
| pyrene (129-00-0) | not genotoxic | questionable | 3 | |
| triphenylene (217-59-4) | limited evidence | negative ? | 3 | |

^a as tabulated in Environmental Health Criteria 202, Table 2 (corrigendum), p.13 (IPCS, 1998)

^b IARC (1987)

^c Commission Directive 2001/59/EC of 6 August 2001 adapting to technical progress for the 28th time Council Directive 67/548/EEC

Stato dell'arte e sviluppo della normativa sugli IPA

Sebbene siano state ampiamente dimostrate le proprietà cancerogene degli IPA non è stato ancora possibile fissare dei veri e propri limiti oltre i quali essi costituiscano un rischio per la salute; questo è dovuto alla difficoltà di riferire all'uomo i dati tossicologici sugli animali (25).

Alcuni Paesi europei come la Germania, l'Austria e la Polonia hanno adottato un limite legale di 1ppb per il B(a)P, che consente di valutare la pericolosità della contaminazione da IPA, contenuto in alimenti conservati affumicati; ancora non ci sono limiti ben precisi per il contenuto di IPA negli oli e nei grassi. Questo appare un controsenso considerando il contenuto apprezzabile di B(a)P e di altri IPA ritrovato in alcuni oli vegetali e alla luce del fatto che gli alimenti affumicati rappresentano solo una minima parte della dieta media rispetto ad oli e grassi. A dispetto di questo stato di cose la German Society for Fat Science ha fissato un limite di 25 ppb per gli IPA totali (25).

L'Unione Europea ha fissato per il B(a)P nuovi limiti per alcune categorie di alimenti (tabella 3 e tabella 4).

Table 3. Overview of maximum limits for PAHs in certain types of food, set in certain EU Member States before Commission Regulation (EC)208/2005 came into force (abbreviations according to Table 1; BeP: benzo[el]pyrene; DgP: dibenzo[*g,h*]pyrene)

| | | | |
|------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------|---------------------------------------------------|
| Czech Republic | Meat products | BaA, BbF, BkF, DhA, DhP, DiP, IcP, CHR | 3.0 µg/kg |
| | Roasted coffee, cereals, fruits, vegetables, fats and oils | BaA, BbF, BkF, DhA, DhP, DiP, IcP, CHR | 2.0 µg/kg |
| | Fish, spirits, flavorings | BaA, BbF, BkF, DhA, DhP, DiP, IcP, CHR | 1.0 µg/kg |
| | Beverages, beer, wine, tea | BaA, BbF, BkF, DhA, DhP, DiP, IcP, CHR | 0.5 µg/kg |
| Slovak Republic | Smoked meat products and non-smoked fish products | BaP | 1.0 µg/kg |
| | Smoked fish products | | 2.0 µg/kg |
| | Oils and fats of plant origin | | 5.0 µg/kg |
| | Other foodstuffs of plant origin | | 10.0 µg/kg |
| Italy | Olive pomace oil and refined olive pomace oil | BaP, BeP, BaA, BbF, BkF, DgP, IcP sum of above | 2.0 µg/kg each 5.0 µg/kg |
| | | | |
| Germany | Cheese and cheese products, smoked or containing smoke flavorings. Cheese products manufactured by using smoked or smoke-flavored food ingredients | BaP | 1.0 µg/kg |
| | Smoked meat and meat products. Meat products, partly containing smoked food ingredients | BaP | 1.0 µg/kg |
| | Food ready for consumption containing food flavorings, with the exception of food treated with freshly produced smoke | BaP | Max. 0.03 µg/kg may be added by adding flavorings |
| Poland | Smoke flavorings | BaP | Max. 0.03 µg/kg may be added by adding flavorings |
| Belgium | Smoked meat and meat preparations | BaP | 2.0 µg/kg |
| Spain | Olive pomace oil | BaA, BbF, BkF, DhA, IcP, BaP, BeP, BgP | 2.0 µg/kg each |
| | | sum of above | 5.0 µg/kg |
| Greece | Olive pomace oil | BaA, BbF, BkF, DhA, IcP, BaP, BeP, BgP | 2.0 µg/kg each |
| | | sum of above | 5.0 µg/kg |
| Sweden | Olive pomace oil and refined olive pomace oil | BaA, BbF, BkF, DhA, IcP, BaP, BeP, BgP | 2.0 µg/kg each |
| | | sum of above | 5.0 µg/kg |
| United Kingdom France Ireland Cyprus Luxembourg Denmark Slovenia | No legal limits, but some countries have recommended maximum levels | | |

| Table 4. Maximum levels of benzo(a)pyrene in food, specified in Commission Regulation (EC) 208/2005 (Numbering of food groups is identical with numbering in Regulation) | | |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------|
| | Product | Maximum level (µg/kg wet weight) |
| 7.1.1. | Oils and fats intended for direct human consumption or use as an ingredient in foods | 2.0 |
| 7.1.2. | Foods for infants and young children | 1.0 |
| 7.1.2.1. | Baby food and processed cereal-based foods for infants and young children | |
| 7.1.2.2. | Infant formulae and follow-on formulae, including infant milk and follow-on milk | |
| 7.1.2.3. | Dietary foods for special medical purposes intended specifically for infants | |
| 7.1.3. | Smoked meats and smoked meat products | 5.0 |
| 7.1.4. | Muscle meat of smoked fish and smoked fishery products excluding bivalve mollusks | 5.0 |
| 7.1.5. | Muscle meat of fish, other than smoked fish | 2.0 |
| 7.1.6. | Crustaceans, cephalopods, other than smoked | 5.0 |
| 7.1.7. | Bivalve mollusks | 10.0 |

In Italia per le acque destinate al consumo umano è stato stabilito un valore limite di 0.1 µg/l per la somma di benzo(b)fluoranthene, di benzo(k)fluoranthene, di benzo(g,h,i)perylene e di indeno(1,2,3-c,d)pyrene ed un valore massimo di 0.01 µg/l ppb per il benzo(a)pyrene (D. Lg. n.31/2003); mentre relativamente alla presenza di B(a)P legato all'impiego degli aromi di affumicatura, il D.L. n. 107 del 25.01.1992 stabilisce un limite pari a 0.03 ppb. In un'ordinanza del 2001, relativa agli oli di sansa di oliva ed agli oli di sansa di oliva raffinati, si fissa un tenore massimo tollerabile, per il benzo(a)pyrene, benzo(e)pyrene, benzo(a)anthracene, benzo(b)fluoranthene, benzo(k)fluoranthene, dibenzo(a,h)anthracene, benzo(g,h,i)perylene ed indeno(1,2,3-c,d)pyrene, non superiore a 2.0 ppb fermo restando che la somma dei

tenori tollerabili degli IPA sopraindicati non può superare il valore di
5.0 ppb.

OBIETTIVO E MODALITÀ DI SVOLGIMENTO DELLO STUDIO

Area di studio, popolazione e campionamento

Il reclutamento dei bambini, oggetto del presente studio, è stato condotto nell'inverno 2005 nell'area metropolitana di Napoli. Tre scuole elementari selezionate in base alla loro localizzazione urbana, la prima nel centro storico, la seconda in un'area residenziale, la terza in periferia, furono contattate e fu organizzato un incontro con i bambini e con i genitori per illustrare gli obiettivi del progetto. Inizialmente furono selezionate 78 famiglie; i genitori di 30 bambini, 12 maschi e 18 femmine tra i 7 e i 9 anni, dieci per ciascuna scuola, che non usufruivano del servizio di refezione scolastica, hanno aderito allo studio. I genitori dei bambini firmarono il consenso informato ed il progetto fu approvato dalla commissione etica della Facoltà di Medicina e Chirurgia "Federico II". Dei bambini scelti su un'apposita scheda fu registrato il peso corporeo e calcolato il valore medio di 31,5 Kg. Le trenta famiglie selezionate parteciparono contemporaneamente durante la prima settimana del mese di dicembre 2005; fu scelta la settimana perché rappresentativa dello stile dietetico italiano, considerando

il sabato e la domenica come giorni di vacanza in cui una particolare attenzione è data dalle madri alle preparazioni culinarie secondo le tradizioni regionali gastronomiche. All'inizio furono definiti il protocollo e il diario alimentare/questionario con domande aperte, semiaperte e chiuse inerenti lo stile di vita del bambino (peso, altezza, sesso, abitudini alimentari, quantità, tipo e modalità di cottura degli alimenti consumati nell'arco della giornata precedente, ecc.

Durante il primo incontro furono date le istruzioni scritte e verbali per la raccolta dei campioni e per la compilazione del questionario; successivamente, con una visita si constatò l'appropriatezza e l'effettiva partecipazione dei genitori. Infine, ogni giorno i partecipanti furono invitati a preparare un duplicato di ogni cibo e bevanda consumati, raccogliendoli in sacchetti di polietilene e conservandoli in frigorifero. I campioni raccolti a casa dai genitori il giorno prima furono presi e trasportati il giorno successivo al laboratorio dal gruppo di lavoro.

Preparazione dei campioni ed analisi di laboratorio

La parte sperimentale della presente tesi è stata eseguita per intero nel laboratorio di Chimica Ambientale della sezione di Igiene dell'Università degli Studi di Napoli "Federico II".

Il metodo utilizzato è stato quello di Takatsuki et al. 1985 con piccole modificazioni adattate nel nostro laboratorio. In ciascun campione è stata determinata simultaneamente la concentrazione dei seguenti idrocarburi policiclici aromatici: fluorene, phenanthrene, anthracene, fluoranthene, pyrene, benzo(a)anthracene, naphthalene, acenaphthene, chrysene, acenaphthylene, benzo(b)fluoranthene, benzo(k)fluoranthene, benzo(a)pyrene, dibenz(a,h)anthracene, benzo(ghi)perylene, indeno(1,2,3-cd)pyrene. Gli idrocarburi policiclici aromatici carcinogenici, considerati dall'EPA, dall'SCF (Scientific Committee on Food, 2002) e dal JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, 2005), sono stati determinati simultaneamente: benzo(a)anthracene, chrysene, benzo(b)fluoranthene, benzo(k)fluoranthene, benzo(ghi)perylene, benzo(a)pyrene, dibenzo(a,h)anthracene and indeno(1,2,3-cd)pyrene.

La ricerca degli idrocarburi policiclici aromatici nella matrice alimentare ha previsto che 5 g di campione, previamente omogeneizzati, siano stati trasferiti in un digestore munito di

refrigerante a ricadere ed addizionati di una soluzione alcalina costituita da 20 mL di etanolo, 3.5 mL di KOH al 50% e 0.2 g di $\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$. La miscela, lasciata bollire a ricadere per 2 ore alla temperatura di 110°C , previo raffreddamento, è stata addizionata di 15 mL di n-esano e trasferita in un imbuto separatore da 50 mL. Il tubo digestore, contenente in precedenza il campione in soluzione alcalina, è stato lavato con 15 mL di acqua e, per due volte, con 1 mL di etanolo. Riunito il tutto nell'imbuto separatore, la miscela è stata agitata vigorosamente e lasciata riposare per favorire la separazione della fase organica dalla fase acquosa. La componente organica è stata raccolta in un pallone per evaporatore rotante da 100 mL mentre la fase acquosa è stata estratta per due volte rispettivamente con 15 mL e 10 mL di n-esano. Gli estratti organici, riuniti nel pallone per evaporatore rotante da 100 mL, sono stati lavati con 10 mL di acqua; raccolti in un pallone da evaporatore rotante da 50 mL, dopo passaggio su Na_2SO_4 anidro, sono stati portati a secco sottovuoto e ripresi con 5 mL di esano. Per la fase di purificazione, l'estratto concentrato è stato trasferito su una colonna di gel di silice previamente condizionata. Alla colonna sono stati addizionati 15 mL di una soluzione in esano al 10% di dietiletere e gli IPA eluiti sono

stati raccolti in un palloncino da evaporatore ruotante da 50 mL. L'eluato raccolto è stato portato a secco ed il residuo ripreso con 0.5 mL di acetonitrile. Un'aliquota di 20 μ L di eluato, previamente filtrato su filtri 0.2 μ m, è stata iniettata al cromatografo HPLC Shimadzu SPD – 10 AVP munito di rivelatore di Fluorescenza RF-10 AXL Shimadzu e di colonna Supelcosil LC-PAH (25 cm x 4.6 mm, 5 μ m). L'analisi è stata condotta utilizzando la seguente programmata: flusso di 1.2 mL/min; fase mobile Acqua/Acetonitrile (50/50) (v/v). In 15 minuti si converte la miscela nel 100% di Acetonitrile per ritornare nuovamente ad una fase mobile Acqua/Acetonitrile (50/50) (v/v) in 15 minuti. Il rivelatore di fluorescenza è stato impostato alla lunghezza d'onda di eccitazione e di emissione.

L'identificazione di ogni singolo IPA è stata realizzata attraverso la comparazione dei tempi di ritenzione dei campioni con quelli degli standards; la quantizzazione confrontando l'area del picco dei campioni con l'area del picco degli standards.

Nelle condizioni sopra indicate, è stato stimato un limite di rilevabilità compreso tra 0.001 e 0.1 ppb di campione ed una percentuale di recupero variabile tra 70-85%.

RISULTATI E CONSIDERAZIONI

Il modello dietetico riportato consta di una colazione leggera al mattino, un pasto più sostanzioso (pranzo) alle ore 13-14 in cui è presente un primo piatto costituito da pasta con sugo o legumi; un pasto più semplice di sera consistente in pizza o in un secondo a base di carne o pesce o uova o formaggio con contorno di verdure. Questi due pasti principali solitamente si concludono con la frutta. Tuttavia i diari alimentari mostrano l'introduzione di qualche nuovo alimento come cornflakes a colazione, un più largo consumo quotidiano di snack dolci o salati, l'aumentato utilizzo di piatti pronti per l'uso freschi o surgelati come cotolette di spinaci, bastoncini di pesce. Il consumo medio quotidiano degli alimenti nella dieta dei bambini appare in accordo con le Linee Guida Raccomandate dall'INRAN per i bambini tra i sette e i nove anni, che suggeriscono un apporto energetico giornaliero di 80 kcal per Kg di peso corporeo per i maschi e 70.4 kcal per le femmine. L'introito energetico deve essere suddiviso in: 15% colazione, 35% pranzo, 30% cena, 10% spuntini. Considerando che il peso medio dei bambini partecipanti allo studio è stato di 31.5 Kg e che l'apporto energetico medio giornaliero

(maschi e femmine) è calcolabile in 75.2 kcal per Kg di peso corporeo, l'assunzione media giornaliera energetica totale dovrebbe essere 2370 kcal. Nello schema dietetico riportato dalle mamme si evince che l'assunzione giornaliera energetica è di 2200 kcal al giorno distribuiti in 13% colazione, 36% pranzo, 27% cena, 24% spuntini.

I livelli di PAH totali trovati nei prodotti alimentari sono riassunti in Tabella 2. I risultati mostrano che le concentrazioni mediane degli IPA totali rientrano nel range di 7,06 e 23,06 $\mu\text{g}\cdot\text{Kg}^{-1}$ rispettivamente in patatine e caramelle, con le più elevate concentrazioni di contaminanti trovate in pane tostato (166 $\mu\text{g}\cdot\text{Kg}^{-1}$), in frittata di uova (155 $\mu\text{g}\cdot\text{Kg}^{-1}$), in campioni di carote all'insalata (125 $\mu\text{g}\cdot\text{Kg}^{-1}$) e in salsiccia arrostita (113,5 $\mu\text{g}\cdot\text{Kg}^{-1}$). Il range delle variazioni dei valori mediani di PAH carcinogenici è tra 0,68 $\mu\text{g}\cdot\text{Kg}^{-1}$ per i cornflakes e 3,26 $\mu\text{g}\cdot\text{Kg}^{-1}$ per i succhi di frutta. La più alta concentrazione di IPA carcinogenici pari a 59,78 $\mu\text{g}\cdot\text{Kg}^{-1}$ è stata trovata in un campione di carne arrostita. Il range delle concentrazioni mediane di IPA totali trovato nei cibi e nelle bevande in questo studio sono confrontabili con i livelli portati da Lodovici et al. (1995) in uno studio condotto in Italia considerando 9 IPA, la maggior parte dei quali veniva rinvenuta in cibi pronti e bibite in un range di concentrazione di 0,2 $\mu\text{g}\cdot\text{Kg}^{-1}$

in vino e $43,11 \mu\text{g}\cdot\text{Kg}^{-1}$ in carne arrostita. Invece Falcò et al. (2003) hanno riportato i livelli di IPA totali in campioni crudi acquistati in Spagna con concentrazioni medie variabili tra $0,89 \mu\text{g}\cdot\text{Kg}^{-1}$ e $14,45 \mu\text{g}\cdot\text{Kg}^{-1}$ in cereali. Nel nostro studio le concentrazioni medie di 8 IPA carcinogenici sono più basse di quelle riportate da Lodovici et al. (1995) ma analoghe a quelle riportate da Falcò et al. (2003) .

Nella Tabella 3 è riportato il potenziale range di esposizione per via alimentare agli IPA totali e carcinogenici nei bambini studiati calcolata considerando i livelli di contaminazione minime e massimi riscontrati nei diversi alimenti e rapportandoli alle porzioni medie consumate giornalmente. Il contributo dei cibi analizzati all'esposizione di IPA totali in bambini appare molto variabile.

I valori più alti sono attribuibili alle verdure fresche o cucinate, mentre latte e derivati appaiono essere meno incidenti sull'esposizione agli IPA attraverso l'introito alimentare. L'esposizione più alta agli IPA carcinogenici è attribuibile al consumo di carne ($5,38 \mu\text{g}/\text{porzione}$), pasta, riso, succhi di frutta e cibi contenenti uova (da $3,98$ a $5,38 \mu\text{g}/\text{porzione}$). In accordo, con quanto concluso da Lodovici che gli alimenti vegetali sono i prodotti alimentari che contribuiscono maggiormente all'assunzione di IPA nella popolazione italiana, in

quanto consumati in misura maggiore rispetto a quelli di origine animale.

In conclusione, questo studio ha mostrato che la composizione della dieta e la suddivisione dell'introito energetico tra i pasti nei bambini studiato è, in media, in accordo con quella suggerita dalle linee guida raccomandate dall'INRAN per i bambini di 7-9 anni. Tuttavia il consumo quotidiano di cibo è molto variabile ogni giorno e da bambino a bambino. Conseguentemente i livelli di esposizione agli inquinanti alimentari potrebbero cambiare considerevolmente e raggiungere valori significativi nella valutazione dell'incremento del rischio per la salute. I risultati ottenuti confermano che gli alimenti rappresentano una fonte importante di esposizione agli IPA. La definizione dei limiti negli alimenti e una stima dell'assunzione massima totale quotidiana potrebbe essere utilizzata per diminuire i rischi per lo stato di salute.

Tabella 1. Schema dietetico e porzione media (g) consumata dai bambini partecipanti allo studio.

| <i>Pasto/Alimento</i> | Porzione media consumata (g) |
|-----------------------------------------------------------------------|------------------------------|
| <i>Colazione (Tra le 7 e le 8:30)</i> | |
| Latte | 150 |
| Biscotti, Dolci, Pasticcini, etc | 25 |
| Cornflakes | 25 |
| <i>Snack (Tra le 10 e circa le 16)</i> | |
| Succhi di frutta | 150 |
| Salumi e Panini con salumi | 70 |
| Biscotti, Dolci, Pasticcini, etc | 25 |
| Cioccolata | 20 |
| Patatine | 30 |
| Caramelle | 20 |
| <i>Pranzo (tra le 12.30 e le 14) – Cena (Tra le 19:30 e le 20:30)</i> | |
| Pasta o riso al pomodoro o legumi | 100 |
| Carne | 90 |
| Pesce | 100 |
| Latticini | 70 |
| Uova | 80 |
| Pizza | 70 |
| Verdure crude e cotte | 100 |
| Pane, crackers, grissini, fette biscottate, ecc | 65 |
| Frutta | 150 |

Tabella 2. Livelli di contaminazione di IPA totali, carcinogenici e benzo(a)pyrene (Media \pm S.D., Mediana e Range $\mu\text{g} \cdot \text{Kg}^{-1}$) in alimenti consumati dai bambini partecipanti allo studio

| Alimenti | Total IPA ^a Totali $\mu\text{g} \cdot \text{Kg}^{-1}$ | | | Benzo(a)pyrene $\mu\text{g} \cdot \text{Kg}^{-1}$ | | | IPA ^b carcinogenici $\mu\text{g} \cdot \text{Kg}^{-1}$ | | |
|-------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------|---------|-------------|------------------------------------------------------|---------|------------|----------------------------------------------------------------------|---------|------------|
| | Media \pm S.D. | Mediana | Range | Media \pm S.D. | Mediana | Range | Media \pm S.D. | Mediana | Range |
| Latte | 12.84 \pm 8.68 | 12.13 | 11.92-12.34 | 0.62 \pm 0.02 | 0.12 | 0.06-0.14 | 0.98 \pm 0.64 | 0.70 | 0.55-0.74 |
| Dolci, biscotti, pasticcini, ecc | 21.00 \pm 19.85 | 12.88 | 3.38-99.01 | 0.68 \pm 1.02 | 0.22 | 0.13-2.60 | 3.62 \pm 4.92 | 1.67 | 0.82-19.99 |
| Cornflakes | 22.85 \pm 18.44 | 16.03 | 9.95-58.98 | 0.58 \pm 0.12 | 0.10 | 0.06-0.79 | 1.21 \pm 0.95 | 0.68 | 0.62-3.06 |
| Succhi di frutta | 19.90 \pm 12.82 | 18.51 | 7.83-33.36 | 5.12 \pm 8.04 | 1.69 | 0.56-8.54 | 9.91 \pm 12.96 | 3.26 | 1.63-24.85 |
| Salumi e panini con salumi | 19.76 \pm 19.25 | 10.73 | 3.37-77.03 | 0.42 \pm 0.72 | 0.16 | 0.15-2.37 | 2.79 \pm 4.45 | 0.98 | 0.72-19.36 |
| Cioccolata | 23.30 \pm 17.51 | 22.97 | 3.81-52.37 | 4.24 \pm 6.74 | 1.63 | 0.45-13.22 | 4.57 \pm 7.07 | 2.50 | 0.69-20.41 |
| Patatine | 7.06 \pm 2.91 | 7.06 | 5.00-9.12 | 0.31 \pm 0.06 | 0.31 | 0.21-0.95 | 1.43 \pm 1.04 | 2.02 | 0.77-2.17 |
| Caramelle | 24.53 \pm 19.01 | 23.06 | 6.31-44.22 | 1.72 \pm 1.16 | 1.59 | 0.31-2.82 | 2.51 \pm 1.67 | 2.30 | 0.96-4.27 |
| Pasta o riso al pomodoro o legumi | 15.65 \pm 15.53 | 8.34 | 2.74-78.75 | 0.28 \pm 0.32 | 0.15 | 0.10-1.24 | 3.09 \pm 6.91 | 0.96 | 0.71-39.81 |
| Carne | 25.80 \pm 26.23 | 18.48 | 3.37-113.49 | 1.47 \pm 2.44 | 1.37 | 0.59-15.78 | 6.27 \pm 10.68 | 2.21 | 0.70-59.78 |
| Pesce | 19.28 \pm 16.76 | 15.03 | 3.44-67.71 | 1.32 \pm 2.03 | 0.64 | 0.33-6.21 | 3.01 \pm 2.93 | 2.18 | 0.68-9.98 |
| Latticini | 14.51 \pm 12.05 | 9.64 | 3.54-47.63 | 0.72 \pm 0.91 | 0.23 | 0.13-1.08 | 3.85 \pm 3.99 | 1.87 | 0.92-12.78 |
| Uova | 37.57 \pm 44.26 | 18.93 | 3.66-155.17 | 1.39 \pm 4.43 | 1.17 | 0.33-18.65 | 9.43 \pm 14.24 | 2.19 | 0.69-46.93 |
| Pizza | 11.76 \pm 7.37 | 10.68 | 3.31-27.55 | 0.64 \pm 0.99 | 0.19 | 0.12-3.50 | 2.25 \pm 2.83 | 0.99 | 0.77-9.35 |
| Verdure crude o cotte | 20.26 \pm 23.64 | 13.53 | 3.18-125.03 | 0.83 \pm 1.28 | 0.33 | 0.31-2.48 | 3.41 \pm 5.31 | 2.15 | 0.93-24.67 |
| Pane, crackers, grissini, fette biscottate, ecc | 23.88 \pm 31.73 | 14.31 | 3.77-166.52 | 0.36 \pm 0.59 | 0.28 | 0.14-3.55 | 4.95 \pm 8.27 | 1.99 | 1.01-29.65 |
| Frutta | 17.88 \pm 16.57 | 13.53 | 2.92-76.80 | 4.98 \pm 7.92 | 1.49 | 1.07-31.34 | 7.45 \pm 12.12 | 2.27 | 0.85-48.82 |

^a IPA totali: fluorene, phenanthrene, anthracene, fluoranthene, pyrene, benzo(a)anthracene, naphthalene, acenaphthene, chrysene, acenaphylene, benzo(b)fluoranthene, benzo(K)fluoranthene, benzo(a)pyrene, dibenz(a,h)anthracene, benzo(ghi)perylene, indeno(1,2,3-cd)pyrene.

^b US EPA, SCF (Scientific Committee on Food, 2002), JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, 2005) IPA Carcinogenici: benzo(a)anthracene, chrysene, benzo(b)fluoranthene, benzo(k)fluoranthene, benzo(ghi)perylene, benzo(a)pyrene, dibenzo(a,h)anthracene and indeno(1,2,3-cd)pyrene.

Tabella 3. Range di esposizione agli IPA totali e Carcinogenici considerando i livelli di contaminazione minime e massimi riscontrati nei diversi alimenti e rapportandoli alle porzioni medie consummate giornalmente.

| Alimenti | Range di esposizione (μg) | |
|-------------------------------------------------|----------------------------------------|-------------------|
| | IPA totali | IPA carcinogenici |
| Latte | 1.79-1.85 | 0.08-0.11 |
| Dolci, biscotti, pasticcini, ecc | 0.15-4.46 | 0.02-0.49 |
| Cornflakes | 0.25-1.47 | 0.01-0.07 |
| Succhi di frutta | 1.17-5.00 | 0.24-3.72 |
| Salumi e panini con salumi | 0.24-5.47 | 0.05-1.35 |
| Cioccolata | 0.08-1.05 | 0.01-0.40 |
| Patatine | 0.15-0.27 | 0.02-0.06 |
| Caramelle | 0.13-0.88 | 0.01-0.08 |
| Pasta o riso al pomodoro o legumi | 0.28-8.03 | 0.07-3.98 |
| Carne | 0.30-10.21 | 0.06-5.38 |
| Pesce | 0.34-6.77 | 0.06-0.99 |
| Latticini | 0.25-3.43 | 0.06-0.89 |
| Uova | 0.28-11.79 | 0.05-3.75 |
| Pizza | 0.22-1.82 | 0.05-0.65 |
| Verdure crude o cotte | 0.32-12.75 | 0.09-2.46 |
| Pane, crackers, grissini, fette biscottate, ecc | 0.24-10.66 | 0.06-1.92 |
| Frutta | 0.32-11.29 | 0.12-3.32 |

Bibliografia

1. Ahmed TM, El-Sayed Abdel Hadi, El Samahy S, Youssof K. The influence of baking fuel on residues of polycyclic aromatic hydrocarbons and heavy metals in bread. *Journal of Hazardous Materials* 2000; 80:1-8.
2. Amodio-Cocchieri R, Del Prete U, Arnese A, Giuliano M, Roncioni A. Heavy Metals and Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAH's) in Marine Organisms from the Ionian Sea (Italy). *Environmental Contamination and Toxicology* 1993; 50:618-625.
3. Angelillo B. *Igiene e Medicina Preventiva*. Editrice Intercontinentalia Napoli 1990.
4. Apostoli P, Cassano F, Clonfero E, Dell'Omo M, Fiorentino ML, Izzotti A, Minoia C, Pavanello S, Valerio F. Tossicologia e prevenzione dei rischi da esposizione professionale a idrocarburi policiclici aromatici. *Giornale Italiano di Medicina del Lavoro ed Ergonomia* 1997; 19:137-151.
5. Baek SO, Field RA, Goldstone ME, Kirk PW, Lester JN, Perry R. A review of atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons: sources, fate and behavior. *Water Air and Soil Pollution* 1991; 60:279-300.
6. Barbuti S, Bellelli E, Fara GM, Giammanco G. *Igiene e medicina preventiva*. Monduzzi Editore 1994.
7. Cappelli P, Vannucchi V. *Principi di Scienza dell'alimentazione*. Zanichelli 1999.
8. Dennis MJ, Massey RC, Cripps G, Venn I, Howarth N, Lee G. Factors affecting the polycyclic aromatic hydrocarbons content of cereals, fats and other food products. *Food Additives and Contaminants* 1991; 8(4):517-530.
9. Dennis MJ, Massey RC, McWeeny DJ, Knowles ME. Analysis of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in UK total diets. *Food and Chemical Toxicology* 1983; 21(5):569-574.
10. De Vincenzi M, Giovannini C, Dessi MR. Aspetti tecnologici e sanitari inerenti l'impiego degli aromi di fumo negli alimenti. *La rivista della Società italiana di Scienza dell'Alimentazione* 1992; 21:81-86.
11. De Vos RH, Van Dokkum W, Schouten A, De Jong-Berkhout P. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Dutch total diet samples. *Food and Chemical Toxicology* 1990; 28(4):263-268.
12. Dyremark A, Westerholm R, Övervik E, Gustavsson JÅ.

Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) emissions from charcoal grilling. Atmospheric Environment 1995; 29(13):1553-1558.

13. European Commission, Opinion of the Scientific Committee on Food, 2002, (http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scf/out153_en.pdf).
13. Fidanza F, Liguori G. Nutrizione umana. Idelson 1995.
14. Garcia Falcon MS, Gonzalez Amigo S, Lage Yusty MA, Lopez de Alda Villaizan MJ, Simal Lozano J. Enrichment of benzo[a]pyrene in smoked food products and determination by high-performance liquid chromatography-fluorescence detection. Journal of Chromatography A 1996; 753(2):207-15.
15. Howard JW, Fazio T. Review of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Foods. Journal Association Official Analytical Chemists 1980; 63(5):1077-1104.
16. International Agency for Cancer Research (<http://www.iarc.fr/ENG/Databases/index.php>).
17. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (<http://www.who.int/ipcs/food/jecfa/en/>).
17. Ignesti G, Lodovici M, Dolara P, Pagliai L, Grechi D. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in olive fruits as a measure of air pollution in the Valley of Florence (Italy). Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology 1992; 48:809-814.
18. Kazerouni N, Sinha R, Hsu Che-Han, Greenberg A, Rothman N. Analysis of 200 food items for benzo(a)pyrene and estimation of its intake in an epidemiologic study. Food and Chemical Toxicology 2001; 39:423-436.
19. Kipopoulou AM, Manoli E, Samara C. Bioconcentration of polycyclic aromatic hydrocarbons in vegetables grown in an industrial area. Environmental Pollution 1999; 106:369-380.
20. Larsson BK, Sahlberg GP, Eriksson AT, Busk LA. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Grilled Food. Journal Agricultural Food Chemical 1983; 31:867-873.
21. Lodovici M, Dolara P, Casalini C, Ciappellano S, Testolin G. Polycyclic aromatic hydrocarbons contamination in Italian diet. Food Additives and Contaminants 1995; 12(5)703-713.
22. Maga JA. Polycyclic Aromatic Hydrocarbon (PAH) Composition of Mesquite (*Prosopis fuliflora*) Smoke and Grilled Beef. Journal Agricultural Food Chemical 1986; 34:249-251.

23. Manoli E, Samara C. Polycyclic aromatic hydrocarbons in natural waters: sources, occurrence and analysis. *Trends in Analytical chemistry* 1999; 18(6):417-28.
24. Menichini E, Bocca A, Merli F, Ianni D, Monfredini F. Polycyclic aromatic hydrocarbons in olive oils on the Italian market. *Food Additives and Contaminants* 1991; 8(3):363-69.
25. Moret S, Bortolomeazzi R, Rebecca S, Conte LS. Determinazione HPLC degli idrocarburi policiclici aromatici negli oli di oliva: comparazione di alcuni metodi di estrazione e purificazione. *La Rivista Italiana delle Sostanze Grasse* 1996; 73:141-146.
26. Moret S, Conte LS. Polycyclic aromatic hydrocarbons in edible fats and oils: occurrence and analytical methods. *Journal of Chromatography A* 2000; 882:245-253.
27. Moret S, Conte L, Dean D. Assessment of Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Content of Smoked Fish by Means of a Fast HPLC/HPLC Method. *Journal Agricultural Food Chemical* 1999; 47:1367-1371.
28. Phillips DH. Polycyclic aromatic hydrocarbons in the diet. *Mutation Research* 1999; 443:139-147.
29. Poli A, Campello C. Contaminazione atmosferica da idrocarburi policiclici aromatici in un'area urbana. *Annali di Igiene* 1994; 6:783-792.
30. Roggi C, Vercesi P, Minoia C, Fonte A, Corbellini C. Alimenti: un'importante fonte di esposizione a idrocarburi policiclici aromatici. *Annali di Igiene* 2001; 13:405-13.
31. Saeed T, Al-Yakoob S, Al-Hashash H, Al-Bahloul M. Preliminary exposure assessment for kuwaiti consumers to polycyclic aromatic hydrocarbons in seafood. *Environment International* 1995; 21(3):255-263.
32. Seminario "Idrocarburi Policiclici Aromatici negli oli e grassi alimentari : aspetti tossicologici ed analitici". Udine 21 febbraio 2002
33. Shchekaturina TL, Khesina AL, Mironov OG, Krivosheeva LG. Carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons in Mussels from the Black Sea. *Marine Pollution Bulletin* 1995; 30(1):38-40.
34. Simko P. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in smoked meat products and smoke flavouring food additives. *Journal of chromatography* 2002; 770:3-18.

35. Takatsuki K, Suzuki S, Sato N, Ushizawa I. Liquid Chromatographic Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Fish and Shellfish. *Journal Association Official Analytical Chemists* 1985; 68(5):945-949.
36. Tuominen JP, Pyysalo HS, Sauri M. Cereal Products as a Source of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons 1988; 36:118-120.
37. Tricker AR, Preussmann R. Chemical food contaminants in the initiation of cancer. *Proceedings of the Nutrition Society* 1990; 49:133-144.
38. Voutsas D, Samara C. Dietary intake of trace elements and polycyclic aromatic hydrocarbons via vegetables grown in an industrial Greek area. *The Science of the Total Environment* 1998; 218:203-216.
39. Vyskocil A, Fiala Z, Chènier V, Krajak L, Ettlerova E, Bukac J, Viau C, Emminger S. Assessment of multipathway exposure of small children to PAH. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 2000; 8:111-118.