

Tecnologie alimentari classiche e innovative: neo-formazione di composti tossici

Ettore Coni, Mauro Di Pasquale, Federica Aureli

Reparto Contaminanti Chimici

Centro Nazionale per la Qualità degli Alimenti e i Rischi Alimentari



Roma, 21-22 novembre 2005

FOCUS SU SICUREZZA D'USO E NUTRIZIONALE DEGLI ALIMENTI



LA PRODUZIONE MONDIALE DI SOSTANZE CHIMICHE

✓ Numero totale di sostanze chimiche (CAS)	> 14 milioni
✓ Nuove sostanze chimiche per settimana	6.000
✓ Prodotti fitosanitari	1.000
✓ Additivi alimentari	5.500
✓ Farmaci	6.000
✓ Sostanze chimiche di uso comune	63.000
✓ Metaboliti	Migliaia
✓ Prodotti da combustione	Migliaia
✓ Prodotti da chimica atmosferica	Migliaia
✓ Esposizione multipla	Comune



Roma, 21-22 novembre 2005

FOCUS SU SICUREZZA D'USO E NUTRIZIONALE DEGLI ALIMENTI



PRINCIPALI INDICATORI BIOLOGICI DI TOSSICITÀ PER L'UOMO

- **TOSSICITÀ SUL SISTEMA RIPRODUTTIVO:** diminuita fertilità maschile e femminile, alterazioni del ciclo ovarico, etc;
- **ALTERAZIONI NEL SISTEMA ENDOCRINO:** inibizione di un ormone naturale e/o variazione della sua concentrazione che si ripercuotono sullo sviluppo di organi e tessuti;
- **DISTURBI AL SISTEMA IMMUNITARIO:** sovrastimolazione che causa una ipersensibilità e quindi risposte allergiche aumentate o addirittura soppressione (diossine e PCB) con una diminuita risposta difensiva dell'organismo;
- **EFFETTI SUL SISTEMA NERVOSO CENTRALE E PERIFERICO:** disturbi comportamentali e sviluppo di neuropatologie degenerative o non degenerative;



Roma, 21-22 novembre 2005

FOCUS SU SICUREZZA D'USO E NUTRIZIONALE DEGLI ALIMENTI



PRINCIPALI INDICATORI BIOLOGICI DI TOSSICITÀ PER L'UOMO

- **TOSSICITÀ ORGANO SPECIFICA:** danni fino alla necrosi cellulare a danno di determinati organi definiti bersaglio;
- **TOSSICITÀ TERATOGENA:** alterazioni a livello embrionale con induzione di anomalie o malformazioni fetali;
- **TOSSICITÀ GENETICA:** modifica del patrimonio genetico delle cellule con induzione di lesioni trasmissibili;
- **PATOLOGIE TUMORALI:** è ormai certo che la diossina 2,3,7,8-TCDD è un promotore di patologie tumorali (perché favorisce selettivamente la crescita di cellule mutate geneticamente), ma non agisce su un particolare organo bersaglio;
- **ECOTOSSICITÀ:** effetti negativi su organismi acquatici e del suolo, piante e animali.

Solo il 7 % delle sostanze chimiche ad alto volume di produzione (HPV) sono corredate da studi su almeno sei dei nove principali indicatori di tossicità, mentre ben il 43 % non ha studi (pubblicati) su nessuno degli indicatori (EPA, 2002)



EDF (Environmental Defense Fund) parla di “Toxic Ignorance” e OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development) continua a promuovere e finanziare nuovi studi

SOSTANZE CHIMICHE VALUTATE DALL'AGENZIA INTERNAZIONALE PER LA RICERCA SUL CANCRO (IARC)

Numero totale di sostanze chimiche valutate	899
Cancerogene per l'uomo sostanze da processo industriale, da ambiente di lavoro, da stili di vita, farmaci e agenti biologici.	95
Probabilmente cancerogene per l'uomo	66
Sospette cancerogene per l'uomo	241
Cancerogene per gli animali	287







Roma, 21-22 novembre 2005

FOCUS SU SICUREZZA D'USO E NUTRIZIONALE DEGLI ALIMENTI



FONTI DI PERICOLO PER I PRODOTTI ALIMENTARI

-  *Pericoli chimici naturali*
-  *Pericoli chimici ambientali*
-  *Pericoli chimici da tecnologie di produzione primaria*
-  *Pericoli chimici da tecnologie di produzione secondaria*

PERICOLI CHIMICI NATURALI

 *Ficotossine* Contaminazione dei prodotti della pesca e dell'acquacoltura

 *Tossine da micromiceti
(micotossine)* Contaminazione degli alimenti e dei mangimi

 *Fitotossine* Contaminazione degli alimenti e dei mangimi



Roma, 21-22 novembre 2005

FOCUS SU SICUREZZA D'USO E NUTRIZIONALE DEGLI ALIMENTI



PERICOLI CHIMICI AMBIENTALI

- ☀ *Diossine*
- ☀ *Policlorobifenili (PCB)*
- ☀ *Idrocarburi policiclici aromatici (IPA)*
- ☀ *Alchilfenoli*
- ☀ *Metalli pesanti*
- ☀ *Cloropropanoli*
- ☀ *Perfluoroalchilsulfonati*
- ☀ *Ritardanti di fiamma polibromurati*



Roma, 21-22 novembre 2005

FOCUS SU SICUREZZA D'USO E NUTRIZIONALE DEGLI ALIMENTI



CARATTERISTICHE DEI PERICOLI CHIMICI AMBIENTALI

STABILITÀ: sono chimicamente, fisicamente e biologicamente poco o per nulla degradabili (resistenza a luce, calore, acidi, basi, microrganismi, etc).

PERSISTENZA NELL'AMBIENTE: essendo resistenti alla degradazione naturale, hanno una capacità di accumulo nell'ambiente per periodi molto lunghi dopo la loro immissione;

BIOACCUMULABILITÀ NEGLI ANIMALI: essendo in maggioranza liposolubili si concentrano nei tessuti adiposi ed in altri tessuti animali trasferendosi da un organismo all'altro lungo la catena alimentare fino a giungere all'uomo;

ELEVATA TOSSICITÀ: sono sostanze che per inalazione, ingestione o penetrazione cutanea possono comportare rischi acuti, gravi o cronici per la salute e talora la morte dell'organismo.




Roma, 21-22 novembre 2005









FOCUS SU SICUREZZA D'USO E NUTRIZIONALE DEGLI ALIMENTI



PERICOLI CHIMICI DA TECNOLOGIE DI PRODUZIONE PRIMARIA

-  Fertilizzanti → Organici ed inorganici
-  Prodotti fitosanitari → Acaricidi, avicidi, battericidi, biocidi, diserbanti, fungicidi, fisiofarmaci, fitoregolatori, fumiganti, insetticidi, molluschicidi, nematocidi, ovicidi, repellenti e attrattivi, rodenticidi e viricidi.
-  Mangimi e additivi → Attrattanti, appetibilizzanti, immunostimolanti, coloranti, antiossidanti, conservanti,
Antibiotici
-  *Farmaci veterinari* → Vaccini
Anestetici
-  *Ormoni* → Addizionati ai mangimi per determinare il sesso, incrementare la crescita ponderale, regolare o indurre l'ovulazione

PERICOLI CHIMICI DA TECNOLOGIE DI PRODUZIONE SECONDARIA

-  *Residui da solventi*
-  *Ammine biogene (cattivo stato di conservazione)*
-  *Nitriti, ammine eterocicliche e nitrosammine*
-  *Idrocarburi policiclici aromatici*
-  *Metalli pesanti*
-  *Acrilammide, furani, HMF*
-  *Cessioni da materiali ed oggetti destinati a venire a contatto con gli alimenti*
-  *Uso improprio di additivi, aromatizzanti, coloranti*

la preparazione, la trasformazione, la fabbricazione, il confezionamento, il deposito, il trasporto, la distribuzione, la manipolazione, la vendita o fornitura o somministrazione al consumatore.

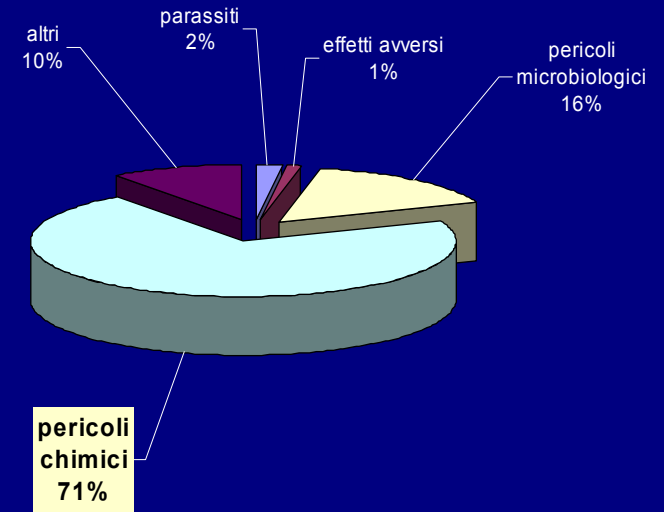
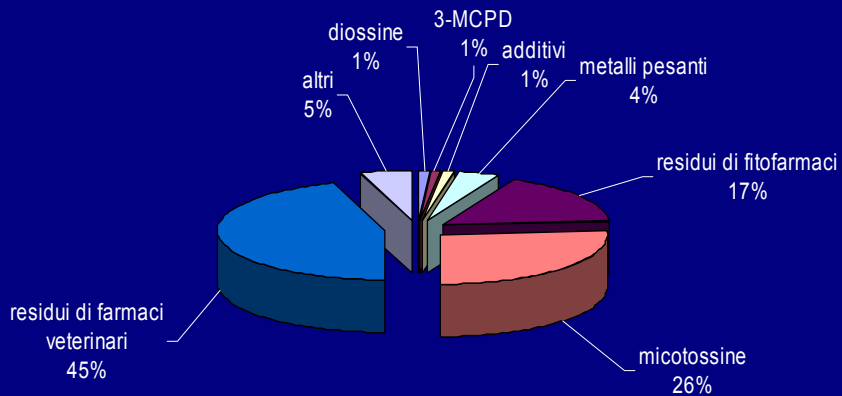


Roma, 21-22 novembre 2005

FOCUS SU SICUREZZA D'USO E NUTRIZIONALE DEGLI ALIMENTI



SISTEMA DI ALLERTIA COMUNITARIO



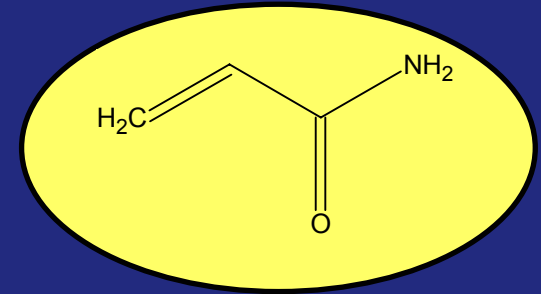
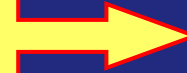
NOTIFICHE
2004

PERICOLI CHIMICI DA NUOVE E VECCHIE TECNOLOGIE

Aprile 2002



Acrilammide

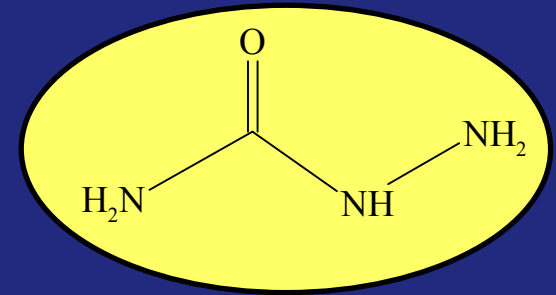


Alimenti amidacei
cotti a elevata
temperatura

Giugno 2003



Semicarbazide

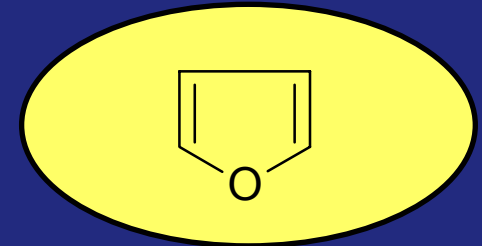


Alimenti in vasetti
per la prima infanzia

Maggio 2004



Furano



Alimenti in barattoli,
caffè, birra

FONTI E TOSSICITA' DELLA SEMICARBAZIDE

La presenza è stata accertata durante i controlli effettuati per la ricerca del farmaco veterinario nitrofurazone (vietato nell'UE), di cui la SEM è un metabolita, in omogeneizzati per la prima infanzia. Vi era una diffusa contaminazione anche in quelli a base vegetale

Azione dell'ipoclorito su carragenina e albume di uovo in polvere

Fonti accertate o presunte

Azione di processi d'essiccazione su alcuni alimenti

Degradazione termica dell'azodicarbonammide

Direttiva 2004/17CE della Commissione ne proibisce l'uso come rigonfiante nelle guarnizioni dei tappi dal 2 agosto 2005

La SEM è considerata debolmente cancerogena (evidenza su topo, ma non su ratto) e debolmente genotossica (evidenza in vitro, ma non in vivo)

FONTI E TOSSICITA' DEL FURANO

La presenza è stata inizialmente denunciata dalla Food and Drug Administration (FDA) in alimenti in scatola, vasetti di vetro e bottiglia sottoposti a pastorizzazione o sterilizzazione

Decomposizione dell'acido ascorbico, deidroascorbico e isoascorbico (D4-Furano)

Fonti accertate o presunte

Perossidazione e ciclizzazione degli ac. grassi polinsaturi (D4-furano)

Degradazione termica dei glucidi (Reazione di Maillard)

Presenti in alimenti per l'infanzia, caffè, birra, salse, conserve con livelli variabili tra unità e centinaia di ppb ($\mu\text{g kg}^{-1}$)

Il furano è considerato possibile cancerogeno per l'uomo (Gruppo 2B della IARC), citossico e genotossico (evidenza in vitro e in vivo)






Roma, 21-22 novembre 2005

FOCUS SU SICUREZZA D'USO E NUTRIZIONALE DEGLI ALIMENTI



FONTI D'ACRILAMMIDE

Fino al 2002 si pensava che l'acrilammide rappresentasse un rischio derivante solo da:

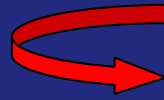
-  Esposizione professionale
-  Fumo di sigaretta
-  Acqua potabile

Nell'aprile del 2002 per la prima volta si è avuta prova del fatto che il rischio poteva derivare anche da:

-  **Alimenti**

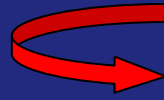
ACRILAMMIDE NEGLI ALIMENTI: BREVE CRONISTORIA

1997 - Costruzione del tunnel di Hallandsås in Svezia



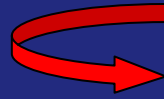
Forte contaminazione ambientale

1999 - Studio epidemiologico per valutare gli effetti dell'acrilammide sui lavoratori interessati



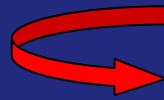
Presenza inaspettata d'acrilammide nel sangue di soggetti non esposti (controlli)

2002 - Verificata per la prima volta la presenza d'acrilammide neoformata in alcuni alimenti



Alimenti a base amidacea cotti ad elevata temperatura (patate fritte, cracker, biscotti, pane, caffè)

2002/2003 - Confermata la presenza anche ad elevate concentrazioni (fino a 3.5 mg kg^{-1})



Livelli di 4 ordini di grandezza più elevati del limite massimo fissato dall'OMS per l'acqua potabile

FORMAZIONE DELL'ACRILAMMIDE NEGLI ALIMENTI

- A. Degradazione di Strecker: α -dicarbonili provenienti dalla reazione di Maillard reagiscono con gli amminoacidi;
- B. Glicosammine come diretti precursori:
- 1) eliminazione di CO_2 e rottura del C-N eterociclico;
 - 2) rilascio dell'aldeide di Strecker;
 - 3) riduzione;
 - 4) disidratazione;
 - 5) formazione di acrilammide;
- C. Via radicali liberi

Meccanismi ipotizzati e supportati da eleganti studi con ^{15}N



Roma, 21-22 novembre 2005

FOCUS SU SICUREZZA D'USO E NUTRIZIONALE DEGLI ALIMENTI



PARAMETRI CRITICI CHE DETERMINANO E MODULANO LA FORMAZIONE DI ACRILAMMIDE

➤ Materie prime



- Varietà
- Cultivar
- Conservazione

➤ Precursori



- Zuccheri riducenti
- Aminoacidi liberi
- Composti dicarbonilici

➤ Condizioni e tecnologia di produzione



- Tempo/temperatura
- Umidità
- Pressione
- pH

EFFETTI TOSSICI SULL'ORGANISMO

- ✓ Neurotossico: dimostrato da studi *in vivo* su animali ed epidemiologici sugli uomini
- ✓ Genotossico: ha la capacità di agire su cellule germinali (addotti al DNA) provocando danni ereditari
- ✓ Cancerogeno in studi su animali da laboratorio
- ✓ Probabile cancerogeno per l'uomo (studi epidemiologici non conclusivi) **IARC: gruppo 2A**

STIMA DELL'ESPOSIZIONE NEL NOSTRO PAESE

*Stima FAO/OMS su dati forniti da Svezia, Svizzera, UK, Norvegia e USA



0.3 - 0.8 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{giorno}$

*Stima IARC su dati forniti da 10 Paesi europei



0.2 - 0.4 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{giorno}$ (livello più alto per Paesi Bassi e UK)

*Stima ISS su dati nazionali



0.2 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{giorno}$ per gli adulti (>16 anni)

0.4 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{giorno}$ per gli adolescenti (10 - 16 anni)

0.7 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{giorno}$ per i bambini (6 - 10 anni)

*Stime basate sul contributo degli alimenti maggiormente contaminati. Contributo di altri alimenti calcolato in circa il 50 % delle esposizioni calcolate.



Roma, 21-22 novembre 2005

FOCUS SU SICUREZZA D'USO E NUTRIZIONALE DEGLI ALIMENTI



STUDIO DI ESPOSIZIONE

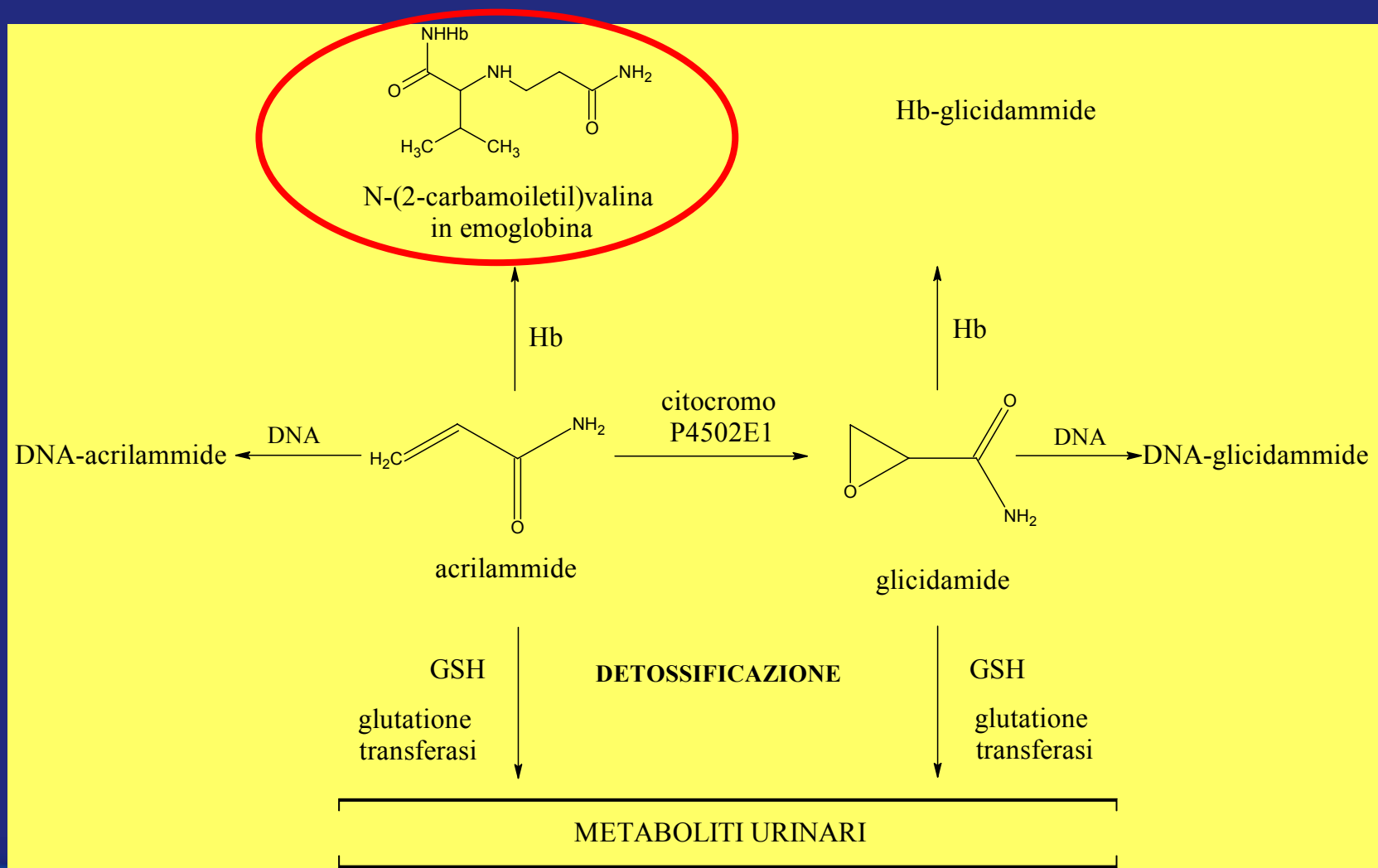
- Vista la mancanza assoluta di studi di biodisponibilità dell'acrilammide ingerita attraverso gli alimenti
- Visto che in tutti gli studi *in vivo* precedentemente condotti sulla tossicità, assorbimento, metabolismo e distribuzione, limitatamente all'esposizione per via orale, l'acrilammide era somministrata con l'acqua

L'obiettivo è stato:



Fornire indicazioni sull'esposizione relativa dell'acrilammide assunta attraverso la dieta rispetto alla stessa assunta attraverso l'acqua

MARKER DI ESPOSIZIONE



ANIMALI E DIETE

- Per la sperimentazione sono stati impiegati 25 suini razza Large White Italiana (peso \approx 70 kg) date le notevoli similitudini con l'uomo per quanto riguarda peso e fisiologia digestiva.
- I suini sono stati numerati da 1 a 25, in modo *random*, suddivisi in 5 gruppi (n = 5) e posti in gabbie singole con abbeveratoi automatici.
- Acqua e mangime calibrati per essere consumati completamente.

Gruppo (n=5)	Dieta	Acqua da bere
1	Mangime standard	Acqua pura
2	Mangime + patatine fritte 3.3 %	Acqua pura
3	Mangime standard	Acqua + acrilammide
4	Mangime + patatine fritte 33 %	Acqua pura
5	Mangime standard	Acqua + acrilammide

PROTOCOLLO SPERIMENTALE

Durante l'intera indagine i suini erano pesati e visitati settimanalmente dal veterinario.



Acclimatamento → 15 giorni

Digiuno → 1 giorno

Somministrazione AA con mangime o acqua → 96 giorni

0.8 e 8 $\mu\text{g kg}^{-1}$ p.c. giorno

Campionamento → 78 giorni

10 mL di sangue prelevati dalla vena giugulare ai giorni 64°, 71°, 85°, 92° (somministrazione) e 99°, 106°, 113°, 120° e 142° (post-somministrazione)

Totale 225 campioni

METODO ANALITICO*

Lisi degli eritrociti ed isolamento della globina



Derivatizzazione con pentafluorofenilisotiocianato



Estrazione con etere etilico e purificazione con acqua - Na_2CO_3 0.1 M



Gascromatografia con rivelatore di massa

Iniettore: PTV (Vaporizzazione a Temperatura Programmata)

Colonna: SGE capillare BPX 5 (95 % dimetil-5 % difenil-polisilossano)
25 m x 0.20 mm ID, spessore del film 0.25 μm

Ionizzazione: impatto elettronico (IE)

Ioni di lavoro: standard interno 363; 396 - addotto 378; 395

*Il metodo validato sulla base dei criteri minimi di rendimento richiesti dalla normativa europea



Roma, 21-22 novembre 2005

FOCUS SU SICUREZZA D'USO E NUTRIZIONALE DEGLI ALIMENTI



RISULTATI E CONCLUSIONI

- ✓ L'esposizione ad AA assunta tramite gli alimenti non è risultata significativamente diversa da quella assunta attraverso l'acqua
- ✓ E' stata riscontrata una diretta proporzionalità tra l'AA somministrata e la concentrazione d'addotto nel sangue (10 vs 1)
- ✓ I livelli d'addotto misurati, per somministrazione di contaminante pari a 10 volte la massima esposizione calcolata per l'uomo, non sembrano configurare il rischio dell'insorgenza di fenomeni neurotossici (174 pmoli g⁻¹ vs un NOAEL di 510 pmoli g⁻¹)



Continuare gli studi per valutare gli eventuali effetti di tossicità cronica con particolare riferimento alla probabile cancerogenicità

Nel contempo, diminuire l'esposizione con gli alimenti (ALARA o MoE)

Seguire le indicazioni generali date dalle autorità sanitarie internazionali in linea con gli obiettivi dei programmi nazionali sulla salute e l'alimentazione



Roma, 21-22 novembre 2005

FOCUS SU SICUREZZA D'USO E NUTRIZIONALE DEGLI ALIMENTI



*GRAZIE PER
L'ATTENZIONE*



Roma, 21-22 novembre 2005

FOCUS SU SICUREZZA D'USO E NUTRIZIONALE DEGLI ALIMENTI

