

# IX WORKSHOP METALLI-SOSTANZE AZOTATE:


Simonetta MENOTTA

Reparto Chimico degli alimenti BOLOGNA



ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE  
DELLA LOMBARDIA E DELL'EMILIA ROMAGNA  
"BRUNO UBERTINI"  
ENTE SANITARIO DI DIRITTO PUBBLICO

LA NOSTRA  
ESPERIENZA,  
LA VOSTRA  
SICUREZZA.



## Determinazione dell'arsenico negli alimenti: caratteristiche del metodo e risultati analitici

29/11/2019

Roma



# ARSENICO



- Metalloide che si presenta in tre forme allotropiche diverse: **gialla, nera e grigia**
- E' presente natura in molte forme, **organiche ed inorganiche**, generalmente le più tossiche
- E' stato utilizzato in passato come **cosmetico**; alcuni suoi composti hanno trovato impiego come **erbicidi e insetticidi** (arseniato di piombo); era inoltre usato come **colorante per dolciumi** (arseniato di rame); è tuttora utilizzato in alcune leghe metalliche





# ARSENICO



- L'arsenico e molti dei suoi composti sono veleni particolarmente potenti
- Non presenta né odore né sapore: veleno per i “delitti perfetti”, perché a bassi dosaggi provoca una morte pressoché uguale a quella naturale

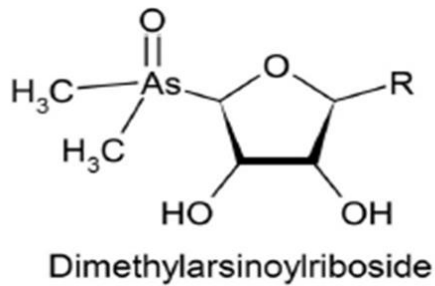




# FORME DI ARSENICO

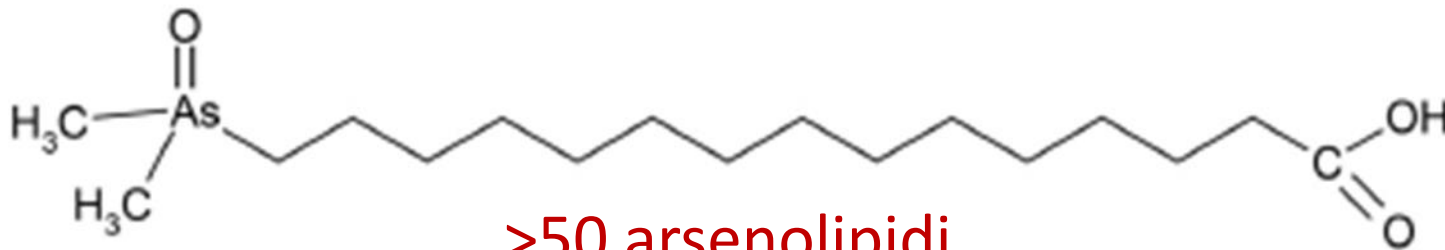
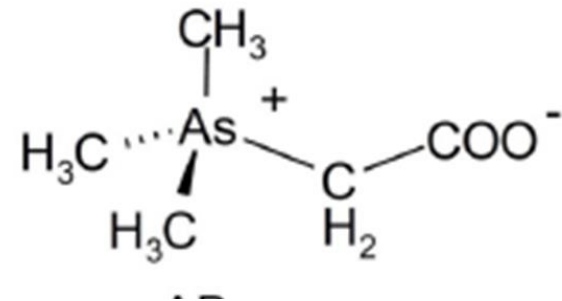


**ORGANICO:** presente in un numero estremamente elevato



>15 arsenozuccheri

>10 arsenocompostiorganici







# TOSSICITA' FORME ORGANICHE



- ✓ Costituiscono un insieme differenziato
- ✓ Non tossiche: **Arsenobetaina**
- ✓ A media tossicità: **DMA-MMA** (acidi dimetilarsinico monometilarsonico)
- ✓ A tossicità non caratterizzata: **Arsenoribosidi-Arsenolipidi**: non incluse nella caratterizzazione del rischio per carenza di dati
- ✓ IARC classificato DMA e metilarsonato come **possibili cancerogeni per l'uomo (Gruppo 2B)** (IARC 1973, 1980)





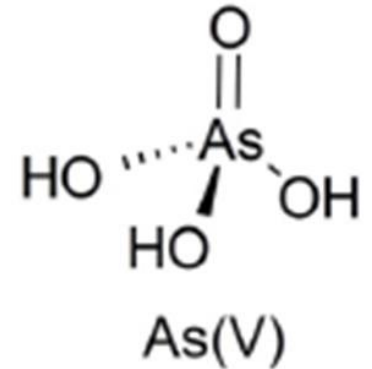
# TOSSICITA'



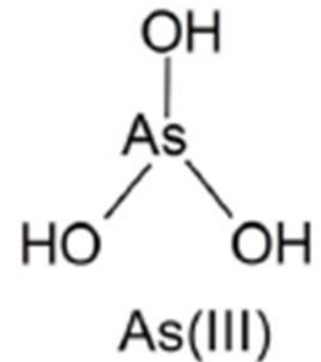
## INORGANICO (IAs)



Derivati di As pentavalente [arseniati ( $\text{As}^{5+}$ )]



Derivati di As trivalente [arseniti ( $\text{As}^{3+}$ )]





# TOSSICITA' FORME INORGANICHE



- ✓ **As inorganico (IAs):** potenzialmente dannoso per la salute umana: **arseniti** più tossici rispetto ad **arseniati**
- ✓ IARC classifica i composti di As e IAs come **cancerogeni per l'uomo (Gruppo 1)** (IARC 1973, 1980)
- ✓ Fino al 2010 presente (PTWI) pari a **15  $\mu\text{g}$  / kg b.w**
- ✓ Valore ritirato perché **0,3  $\mu\text{g}$ /kg b.w.** al giorno possono essere pericolosi per incidenza rischio cancro al polmone (WHO, 2011)

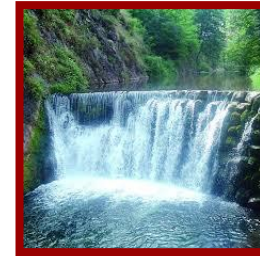




# DOVE SI TROVA?



- Contaminante ambientale diffuso, presente sia in natura sia in conseguenza dell'attività antropica
- Acque e terreni: presenti le forme inorganiche: As (III), As (V) o una combinazione di entrambi



- Alghe, molluschi, crostacei e pesci: Presenti prevalentemente le specie organiche (arsenobetaina, arsenozuccheri, arsenolipidi e arsenocomposti organici)







# DOVE SI TROVA?



- **Alimenti di origine terrestre:** presenti in prevalenza forme inorganiche, DMA e MMA. In assoluto concentrazioni minori di Arsenico ma spostate verso le forme inorganiche (90%). Le carni contengono anche arsenozuccheri



- ✓ **Riso:** contenuto in arsenico inorganico fino al 70% dell'arsenico totale: il resto DMA (Condizioni di crescita anaerobica). Gli strati esterni (pericarpo e crusca) contengono fino al 80%





# ARSENICO INORGANICO



## RACCOMANDAZIONE (UE) 2015/1381 DELLA COMMISSIONE

del 10 agosto 2015

### relativa al monitoraggio dell'arsenico negli alimenti

- 1) che gli Stati membri assicurino, nel corso degli anni 2016, 2017 e 2018, il monitoraggio della presenza di arsenico negli alimenti. Al fine di consentire una stima esatta dell'esposizione, il monitoraggio dovrebbe riguardare un'ampia varietà di prodotti alimentari che tenga conto delle abitudini di consumo anche di alimenti quali cereali, prodotti a base di cereali (compresi crusca e germe), succhi di frutta e di ortaggi, acqua potabile (compresa l'acqua in bottiglia), caffè, foglie secche di tè, birre, pesci e prodotti del mare, ortaggi, prodotti delle alghe (compresa l'alga hijiki), latte, prodotti lattiero-caseari, alimenti destinati ai lattanti e ai bambini nella prima infanzia, alimenti a fini medici speciali e integratori alimentari;
- 3) che gli Stati membri effettuino le analisi relative all'arsenico, determinando di preferenza il tenore di arsenico inorganico e totale e, se possibile, di altre specie pertinenti di arsenico, conformemente all'allegato III del regolamento (CE) n. 882/2004 del Parlamento europeo e del Consiglio <sup>(3)</sup>, facendo uso di un metodo d'analisi che abbia dimostrato di produrre risultati affidabili;



# PROGETTO DI STUDIO



## 8 GRUPPI DI CAMPIONI



**Prodotti ittici**



**Vongole**



**Riso**



**Tonno e Spada**



**Squaloidi**



**Cozze**



**Cefalopodi**



**Prodotti a base di riso**





# DETERMINAZIONE DELL'ARSENICO TOTALE

**Pesate dei  
campioni**

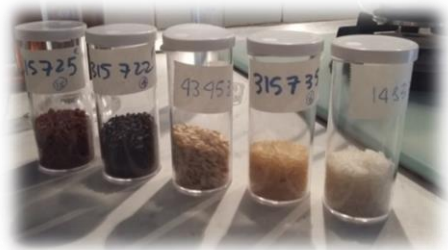
**Mineralizzazione**

**Analisi**

**Pesati  
esattamente  $3 \pm 0,5$  g**

**Con  $\text{HNO}_3$  concentrato  
per 750 minuti a  $75^\circ\text{C}$**

**Mediante ICP-MS  
Agilent 7700**

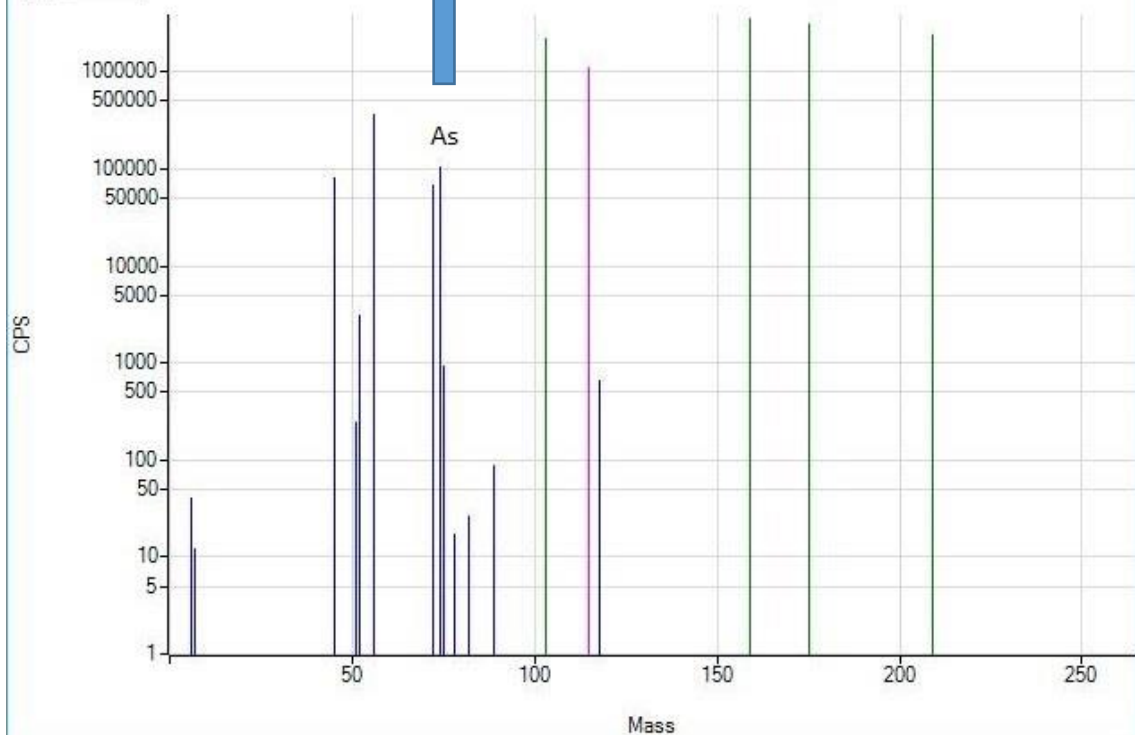




**T-As**

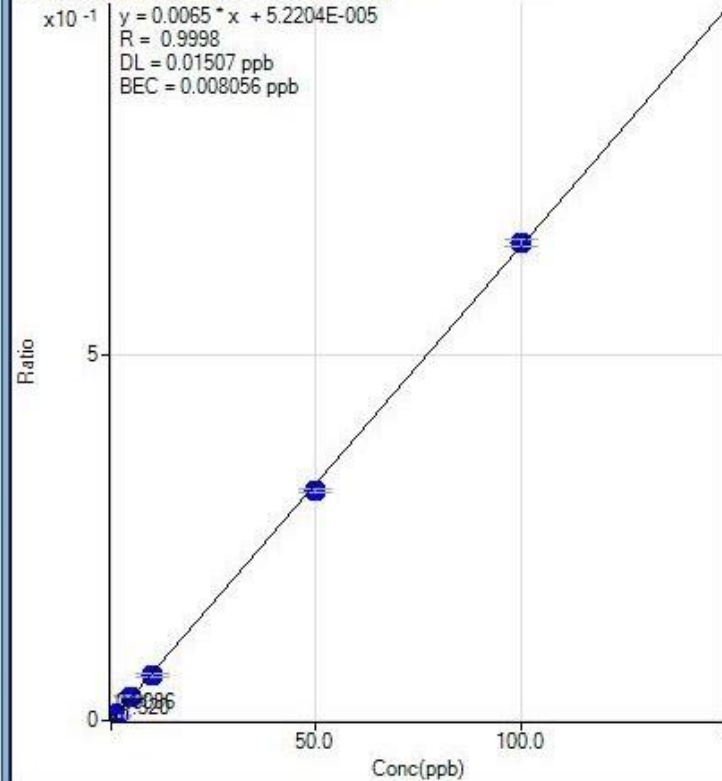
Tune Mode = HEHe : 018SMPL.d

Auto



75 As [HEHe] ISTD : 74 Ge [HEHe]

$y = 0.0065 * x + 5.2204E-005$   
 $R = 0.9998$   
DL = 0.01507 ppb  
BEC = 0.008056 ppb







# SPECIAZIONE DELL'ARSENICO

FDA: Section 4.11 Version 1.1 November 2012

**Pesate dei  
campioni**

**Estrazione**

**Analisi**

**Pesata (3-5g)  
HNO<sub>3</sub> 0,28M- 95° 90 min**

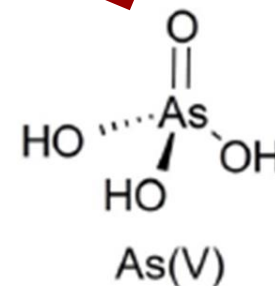
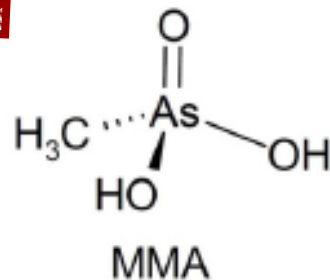
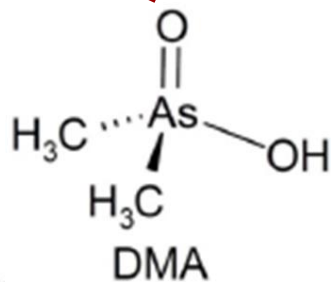
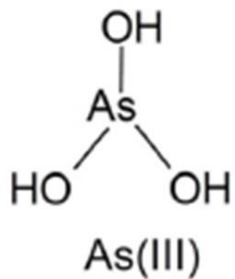
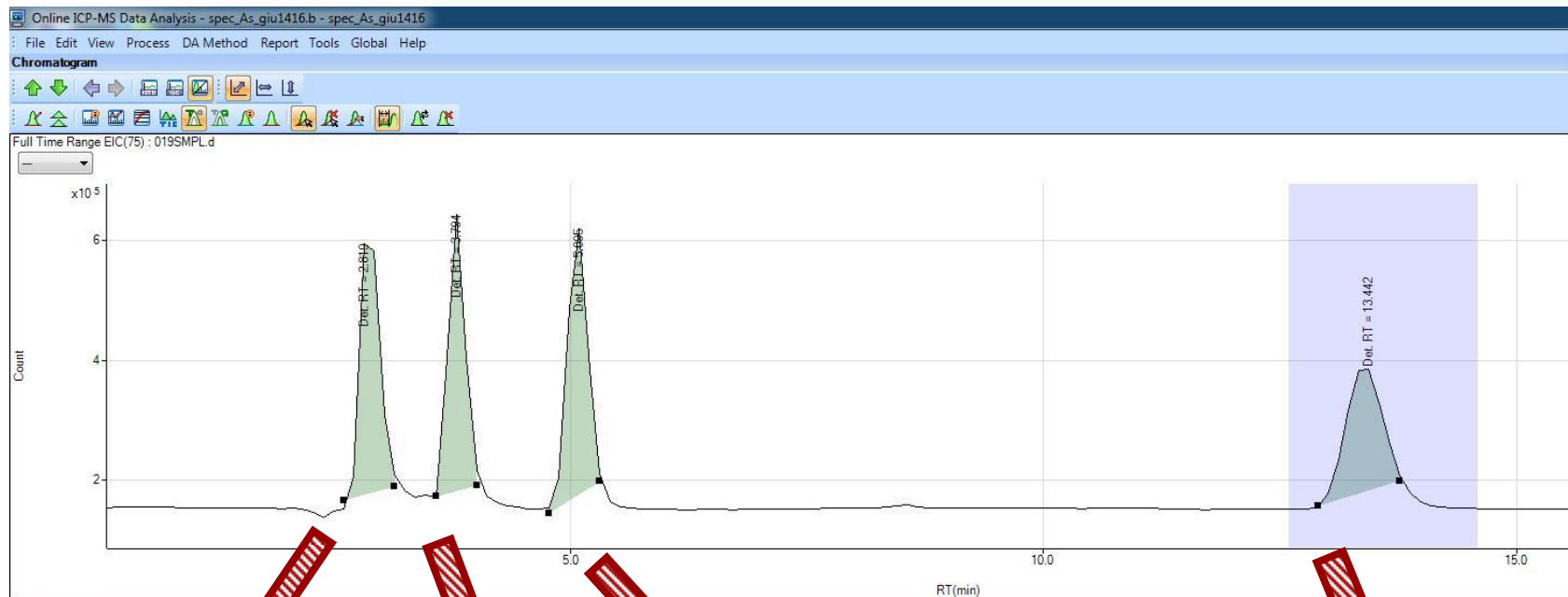
**Raffreddamento  
centrifugazione  
filtrazione**

**pH (6-8,5)  
HPLC Agilent1200 ICP-  
MS Agilent 7700**



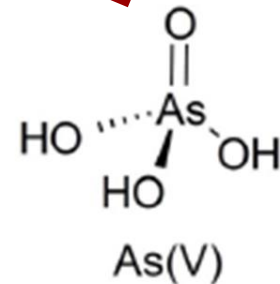
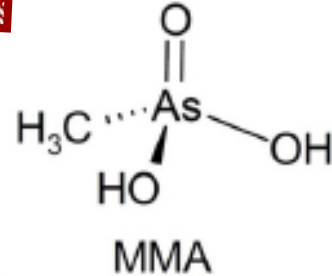
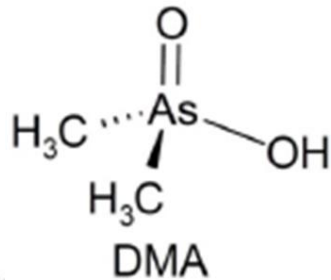
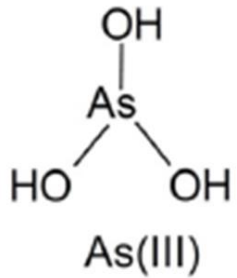
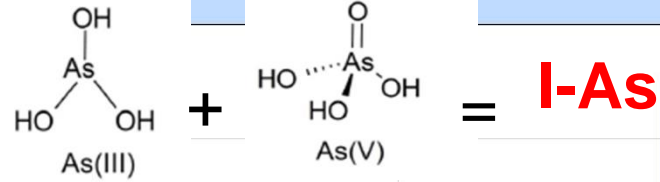
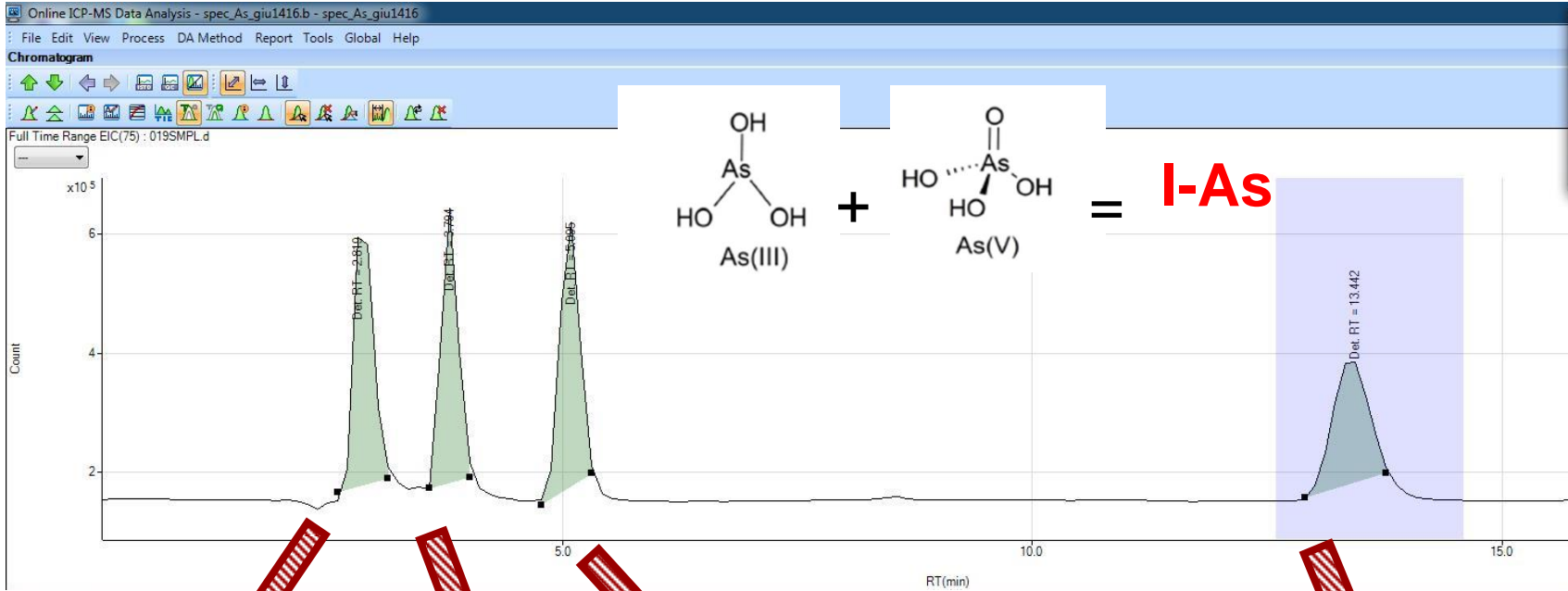


# DETERMINAZIONI





# DETERMINAZIONI





## prodotti ittici (merluzzi, triglie, platesse halibut)

Concentrazioni TAs  1-9 mg/kg

IAs/TAs %  0-2,5%



# RISULTATI squaloidi



As III	As V	IAs	Somma HPLC-ICP-MS	TAs	As inorg/As tot %	Matrice
0,019	0,01	0,029	0,03	1,049	2,76	Smeriglio
0,021	0,011	0,032	0,037	1,433	2,23	Smeriglio
0,027	0,011	0,038	0,04	1,467	2,59	Smeriglio
0,031	0,015	0,046	0,051	2,021	2,28	Smeriglio
0,035	0,013	0,048	0,051	1,289	3,72	Smeriglio
0,046	0,012	0,058	0,062	1,868	3,10	Smeriglio
0,063	0,009	0,072	0,076	2,402	3,00	Smeriglio
0,382	0,015	0,397	0,419	14,632	2,71	Verdesca
0,386	0,018	0,404	0,416	13,43	3,01	Verdesca
0,409	0,008	0,417	0,442	19	2,19	Verdesca

Concentrazioni TAs  1-14 mg/kg

Verdesca > contaminazione IAs e TAs

IAs/TAs %  2,1-3,7%





# RISULTATI tonno e spada



As III	As V	IAS	Somma HPLC-ICP-MS	TAs	As inorg/As tot %	Matrice
0,031	0,083	0,114	0,146	0,636	17,92	Tonno
0,056	0,078	0,134	0,213	0,924	14,50	Tonno
0,073	0,072	0,145	0,157	2,8	5,18	Tonno
0,062	0,091	0,153	0,225	0,92	16,63	Pesce spada
0,095	0,073	0,168	0,175	0,813	20,66	Pesce spada
0,099	0,093	0,192	0,254	0,89	21,57	Pesce spada
0,116	0,087	0,203	0,271	1,052	19,30	Tonno
0,112	0,092	0,204	0,38	1,191	17,13	Pesce spada
0,122	0,101	0,223	0,265	1,1	20,27	Pesce spada
0,199	0,082	0,281	0,377	1,049	26,79	Pesce spada

Concentrazioni TAs  0,6-2,8 mg/kg

Spada > contaminazione IAs?

IAs/TAs %  5-20%



# RISULTATI prodotti ittici



## Cefalopodi

Concentrazioni TAs  0,7-5,2 mg/kg

IAs/TAs %  0-5%

## Vongole

Concentrazioni TAs  2-3 mg/kg

Concentrazioni TAs molto simili rapporti diversi

IAs/TAs %  3-14%

## Cozze

Concentrazioni TAs  1-3 mg/kg

Concentrazioni TAs molto simili rapporti diversi

IAs/TAs %  0,5-10%



# RISULTATI riso



As III	As V	IAs	Somma HPLC-ICP-MS	Tas	As inorg/As tot %	Tipologia campione	Stato di provenienza
0,027	0,028	0,055	0,072	0,086	63,95	Riso Carnaroli BIO	ITALIA
0,022	0,036	0,058	0,067	0,089	65,17	Riso Paraboiled BIO	ITALIA
0,045	0,028	0,073	0,11	0,209	34,93	Riso Ferrarese	ITALIA
0,019	0,057	0,076	0,087	0,101	75,25	Riso Basmati integrale BIO	/
0,048	0,039	0,087	0,087	0,14	62,14	Riso Bianco lungo	CAMBOGIA
0,043	0,044	0,087	0,128	0,191	45,55	Riso superfino arborio	ITALIA
0,058	0,04	0,098	0,151	0,107	91,59	Riso Basmati	INDIA
0,062	0,043	0,105	0,143	0,2	52,50	Riso Superfino Baldo	ITALIA
0,01	0,096	0,106	0,124	0,154	68,83	Riso integrale BIO	THAILANDIA
0,06	0,048	0,108	0,123	0,141	76,60	Riso superfino arborio	/
0,097	0,041	0,138	0,25	0,279	49,46	Riso arborio	ITALIA
0,02	0,12	0,14	0,195	0,133	105,26	Riso venere	/
0,104	0,136	0,24	0,267	0,506	47,43	Riso Carnaroli Integrale	ITALIA

13 campioni  6 superiori a 100 µg/kg

Riso Integrale: contaminazione più elevata

IAs/TAs %  35-90%



# RISULTATI prodotti a base di riso



As III	As V	IAs	Somma HPLC-ICP-MS	Tas	As inorg/As tot %	Prodotto
0,026	0,027	0,053	0,08	0,256	20,70	Piadina
0,025	0,033	0,058	0,081	0,11	52,73	Vermicelli riso
0,029	0,036	0,065	0,101	0,239	27,20	PanLight riso e ceci
0,012	0,059	0,071	0,105	0,127	55,91	Pasta
0,046	0,031	0,077	0,111	0,231	33,33	Galette riso
0,036	0,048	0,084	0,116	0,203	41,38	Crema cereali (riso)
0,066	0,031	0,097	0,13	0,217	44,70	Crema cereali (riso)
0,047	0,072	0,119	0,163	0,377	31,56	Galette riso
0,085	0,036	0,121	0,146	0,289	41,87	Galette riso
0,037	0,093	0,13	0,164	0,236	55,08	Galette riso

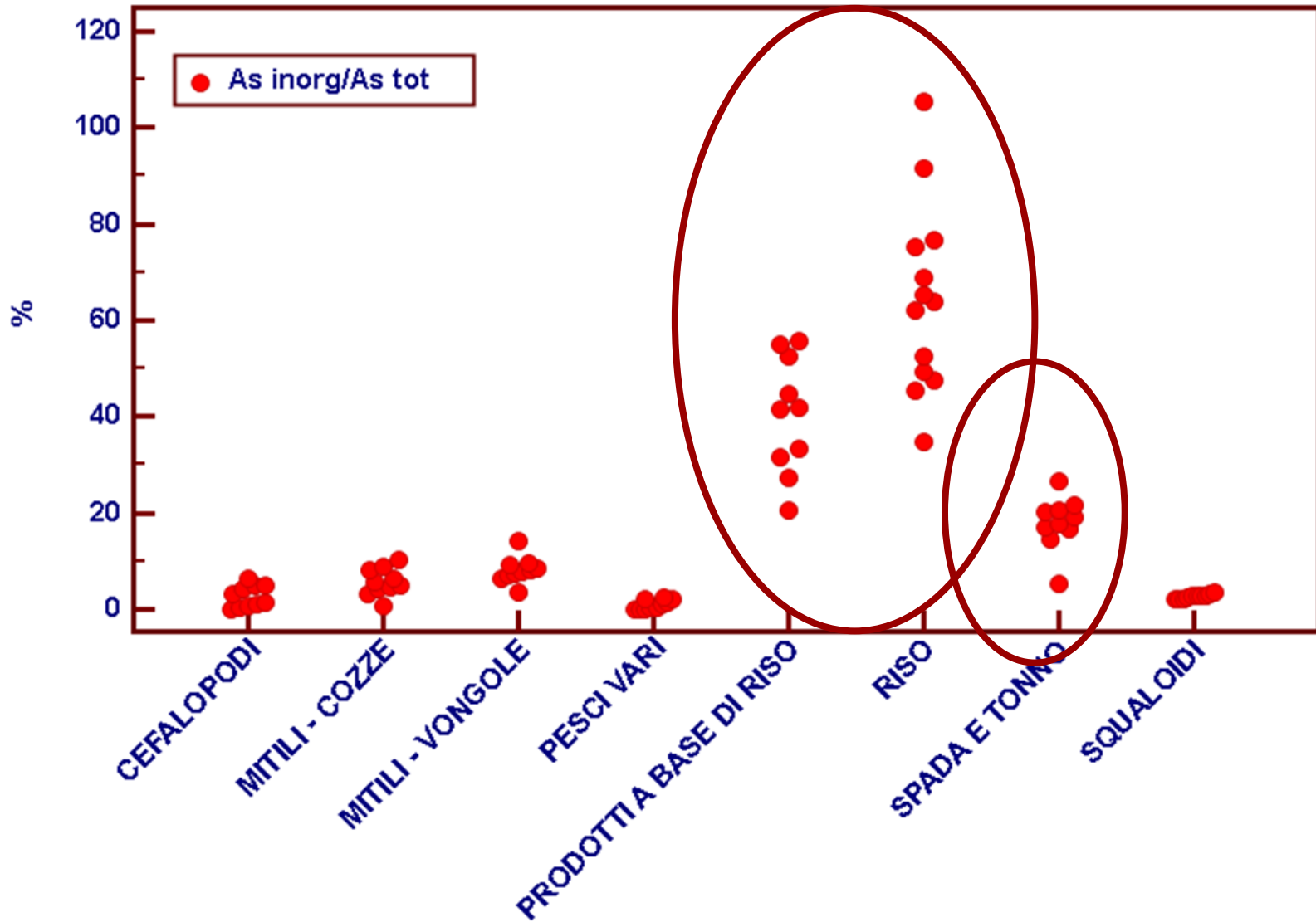
% Riso prodotto  n.d-100%

Galette contaminazione più elevata

IAs/TAs %  20-55%



# As inorganico/As totale





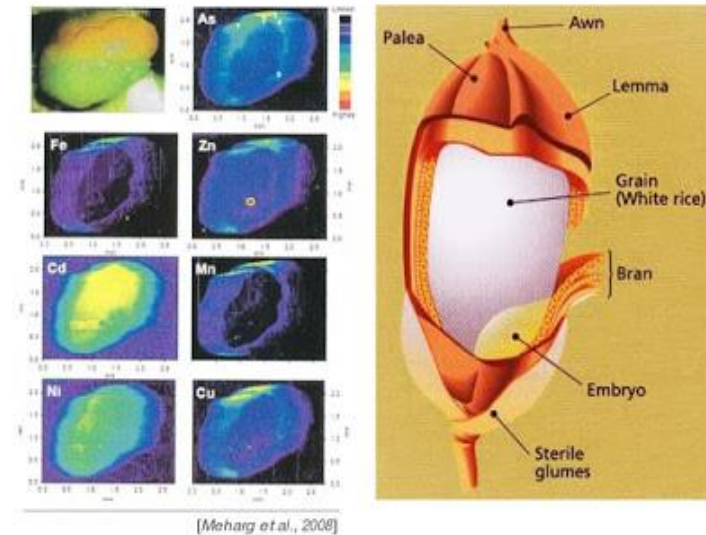


# IL RISO



- ✓ La conformazione geologica, la contaminazione delle acque e, in passato, l'utilizzo massivo di pesticidi arsenicali nei terreni di coltivazione, hanno contribuito ad innalzare la [As] nel suolo
- ✓ Il riso risulta essere il prodotto agricolo che ne accumula la più alta concentrazione rispetto agli altri cereali
- ✓ La localizzazione è dipendente da vari fattori quali la tipologia del chicco, la geochimica del suolo, il livello di contaminazione del terreno di coltura e dell'acqua di irrigazione

Localizzazione dell'As nel granello





# ARSENICO INORGANICO



REGOLAMENTO (UE) 2015/1006 DELLA COMMISSIONE

del 25 giugno 2015

recante modifica del regolamento (CE) n. 1881/2006 per quanto riguarda i tenori massimi di arsenico inorganico nei prodotti alimentari

ALLEGATO

L'allegato del regolamento (CE) n. 1881/2006 è così modificato:

1) Dopo la sottosezione 3.4 Stagno (inorganico) è aggiunta la seguente sottosezione:

«3.5	Arsenico (inorganico) <sup>(50)</sup> <sup>(51)</sup>	mg/kg di peso fresco
3.5.1	Riso lavorato non parboiled (riso brillato o bianco)	0,20
3.5.2	Riso parboiled e riso semigreggio	0,25
3.5.3	Cialde di riso, cialdine di riso, cracker di riso e dolci di riso	0,30
3.5.4	Riso destinato alla produzione di alimenti per i lattanti e i bambini <sup>(3)</sup>	0,10»

2) Sono aggiunte le seguenti note:

«<sup>(50)</sup> Somma di As(III) e As(V)

<sup>(51)</sup> Riso, riso semigreggio, riso brillato e riso parboiled come definito nella norma del Codex 198-1995».



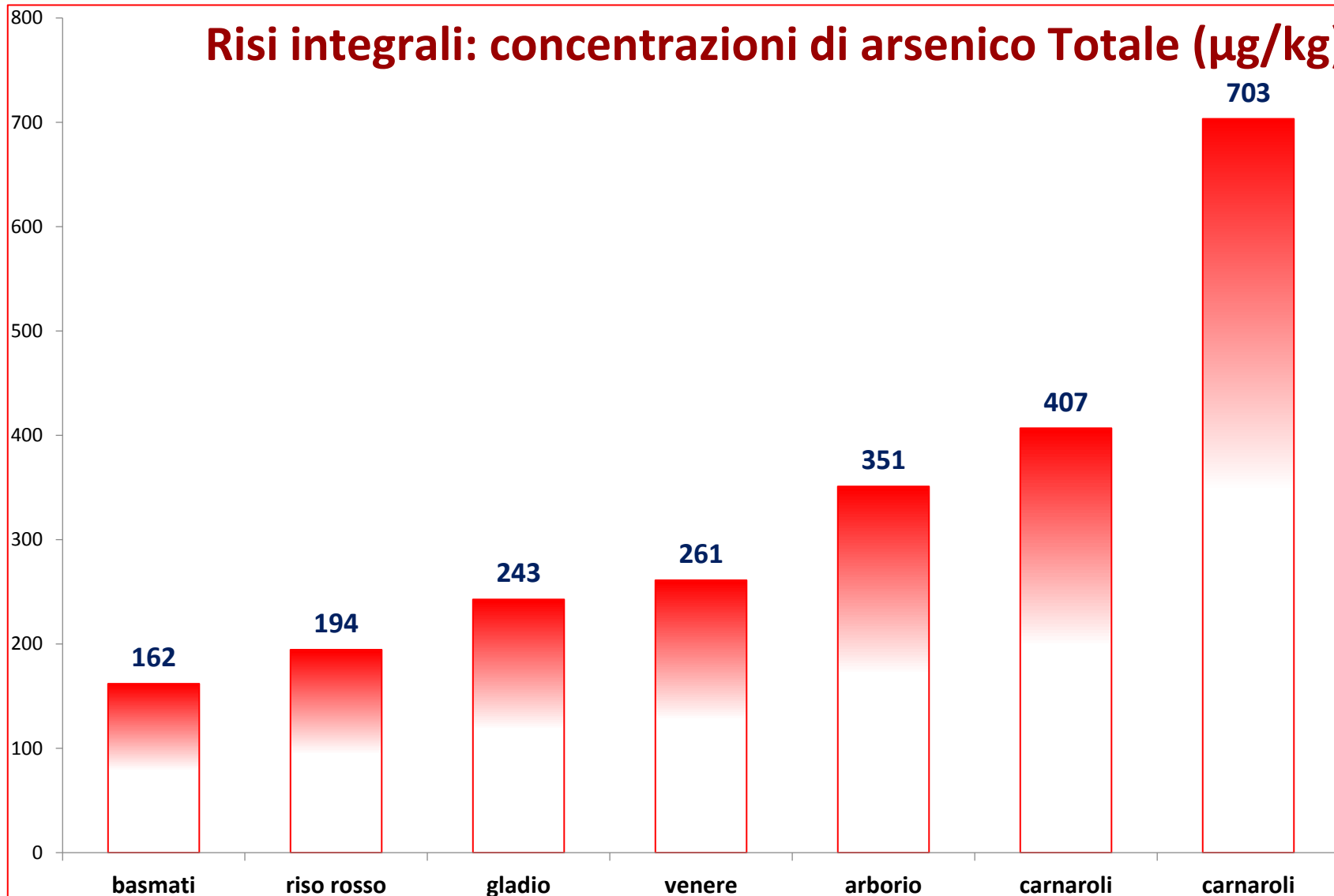
<b>TIPOLOGIA</b>	<b>TIPO2</b>	<b>PROVENIENZA</b>
Carnaroli	Classico	Binasco (Mi)
Carnaroli	Classico	Pavia
Basmati	Classico	Valle Lomellina (Pv)
Basmati	Classico	India e pakistan
Carnaroli	Integrale	Binasco (mi)
Arborio	Integrale	Binasco (Mi)
Basmati	Integrale	India e pakistan
Ribe	Parboiled	Binasco (Mi)
Baldo	Parboiled	Binasco (Mi)
Arborio	Classico	Binasco (Mi)
Vialone nano	Classico	Binasco (Mi)
Rosa Marchetti	Classico	vercelli
Gladio	Integrale	Pavia
Venere	Integrale	Pavia
Riso Rosso	Integrale	pavia
Ribe	Parboiled	Pavia
Arborio	Superfino	Jolanda di savoia (Fe)
Carnaroli	Integrale	Codigoro (Fe)
Riso Bianco	Bianco lungo	Cambogia
Riso Bianco	Bianco largo fino	Brasile



# RISI INTEGRALI



## Risi integrali: concentrazioni di arsenico Totale ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )



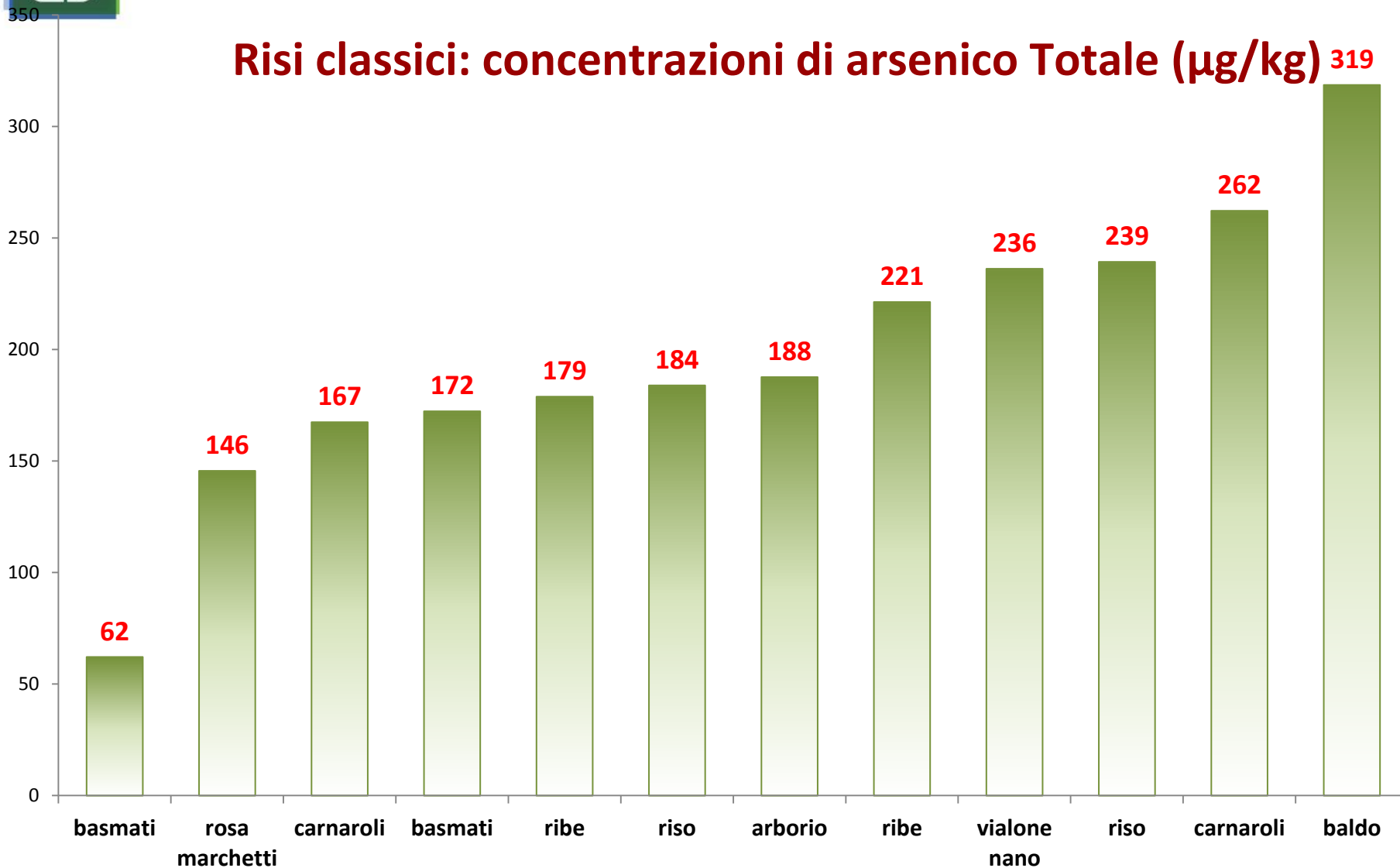




# RISI BRILLATI E PARBOILED

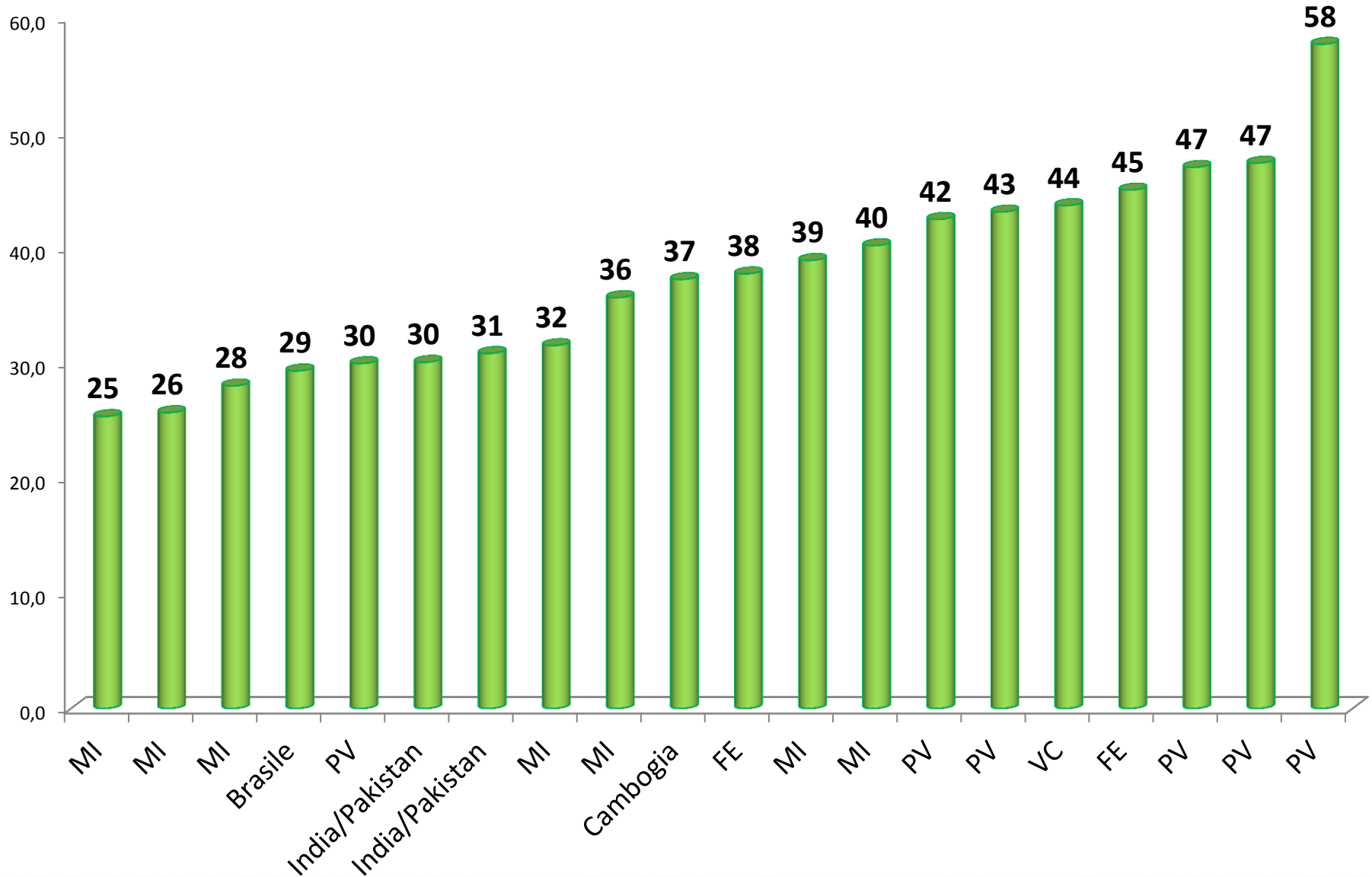


## Risi classici: concentrazioni di arsenico Totale ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) <sup>319</sup>



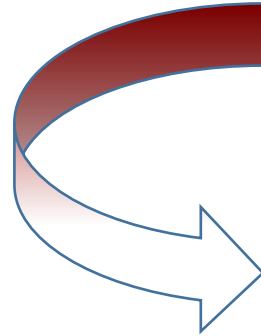


# % di I-As su As totale nel riso crudo





# **IL RISO SUBISCE IL PROCEDIMENTO DI COTTURA PRIMA DEL CONSUMO**



**QUAL E' IL RISCHIO REALE PER IL CONSUMATORE?**



# SIMULAZIONE DELLE COTTURE



- Riso bollito

- Risotto Tradizionale

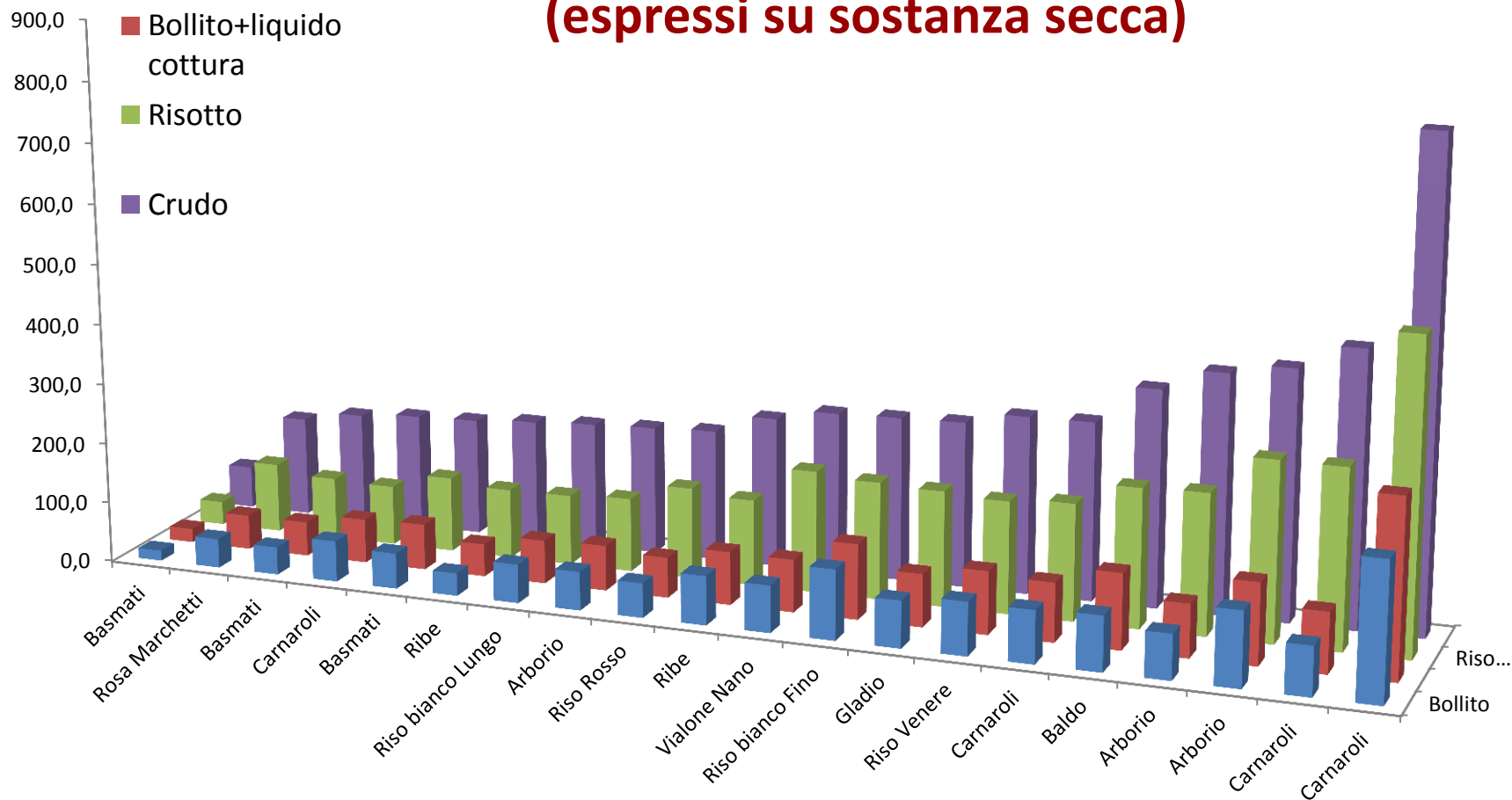






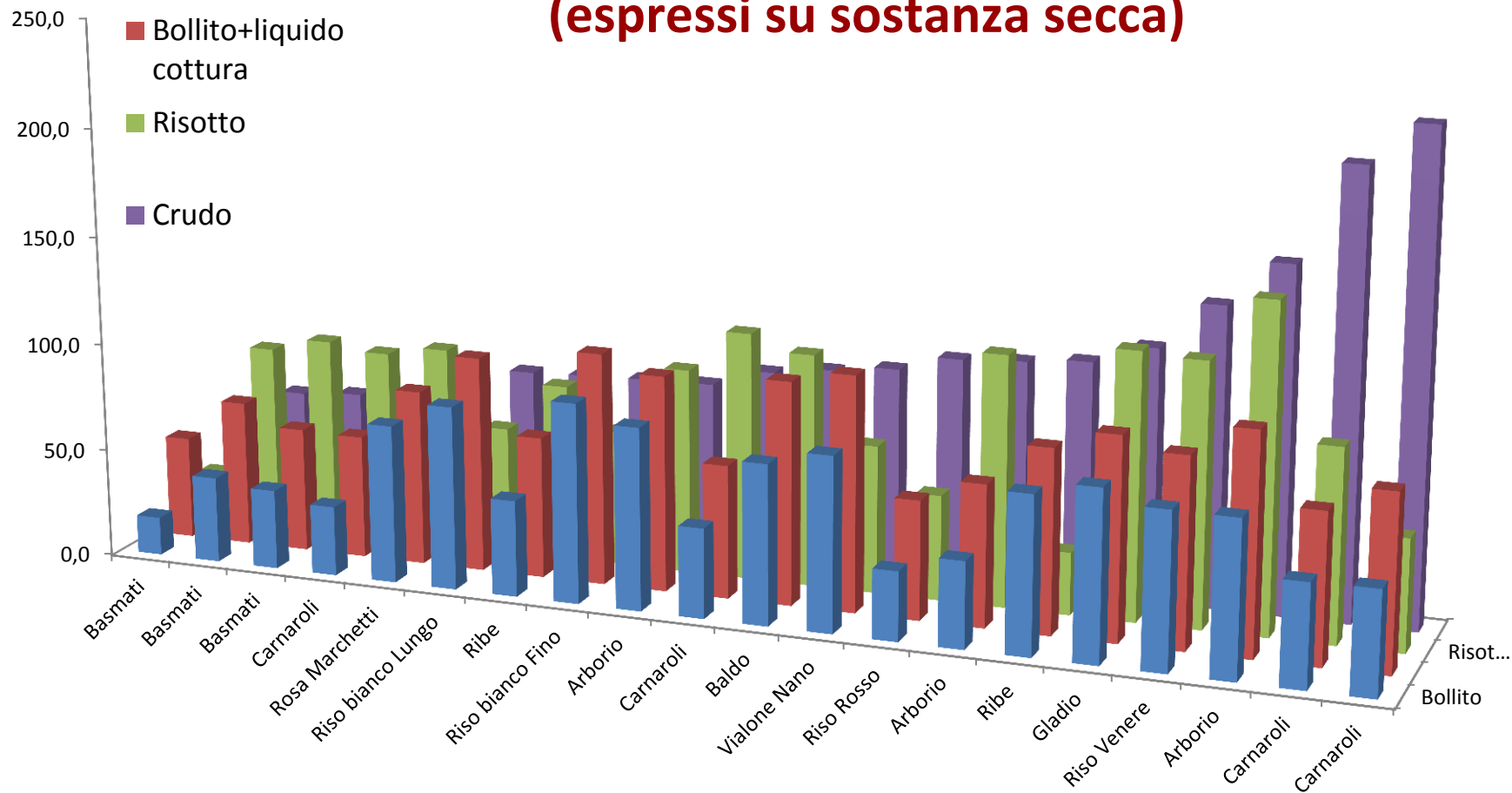
# Variazione di arsenico totale

## nei risi sottoposti alle diverse modalità di cottura (espressi su sostanza secca)



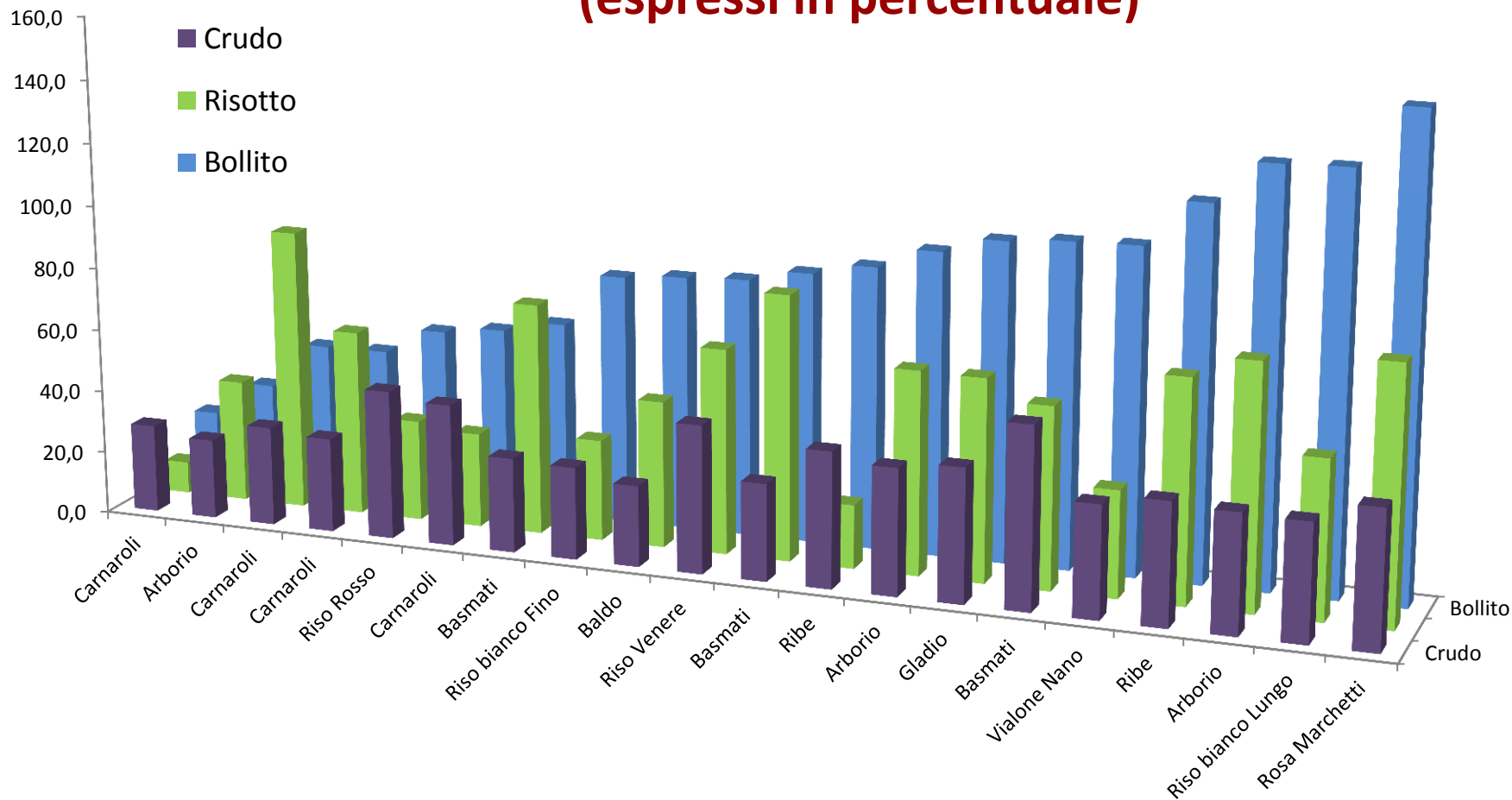


# Variazione di arsenico inorganico nei risi sottoposti alle diverse modalità di cottura (espressi su sostanza secca)





# Rapporto i-As/TAs nei risi sottoposti alle diverse modalità di cottura (espressi in percentuale)

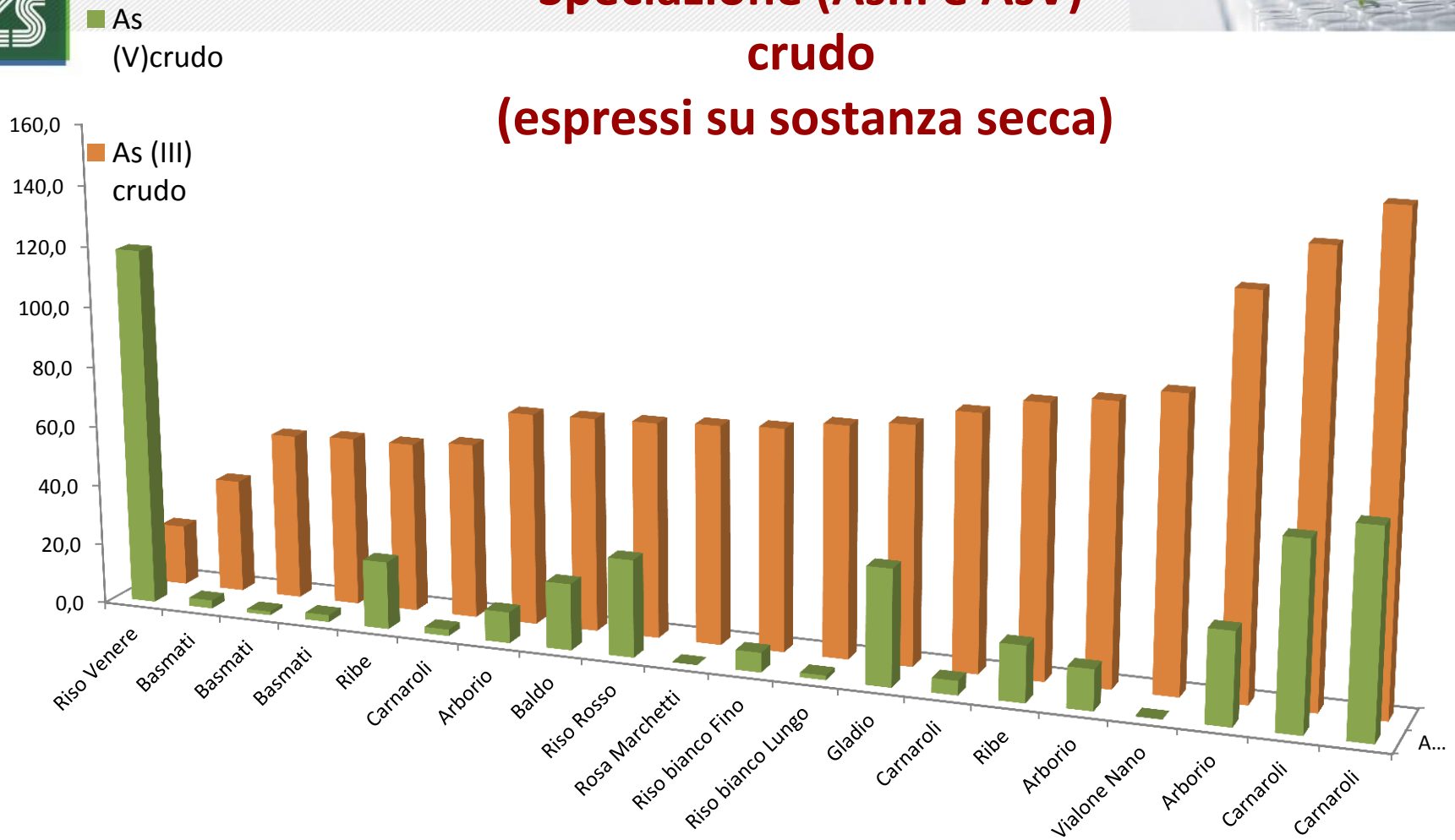




# Speciazione (AsIII e AsV) crudo



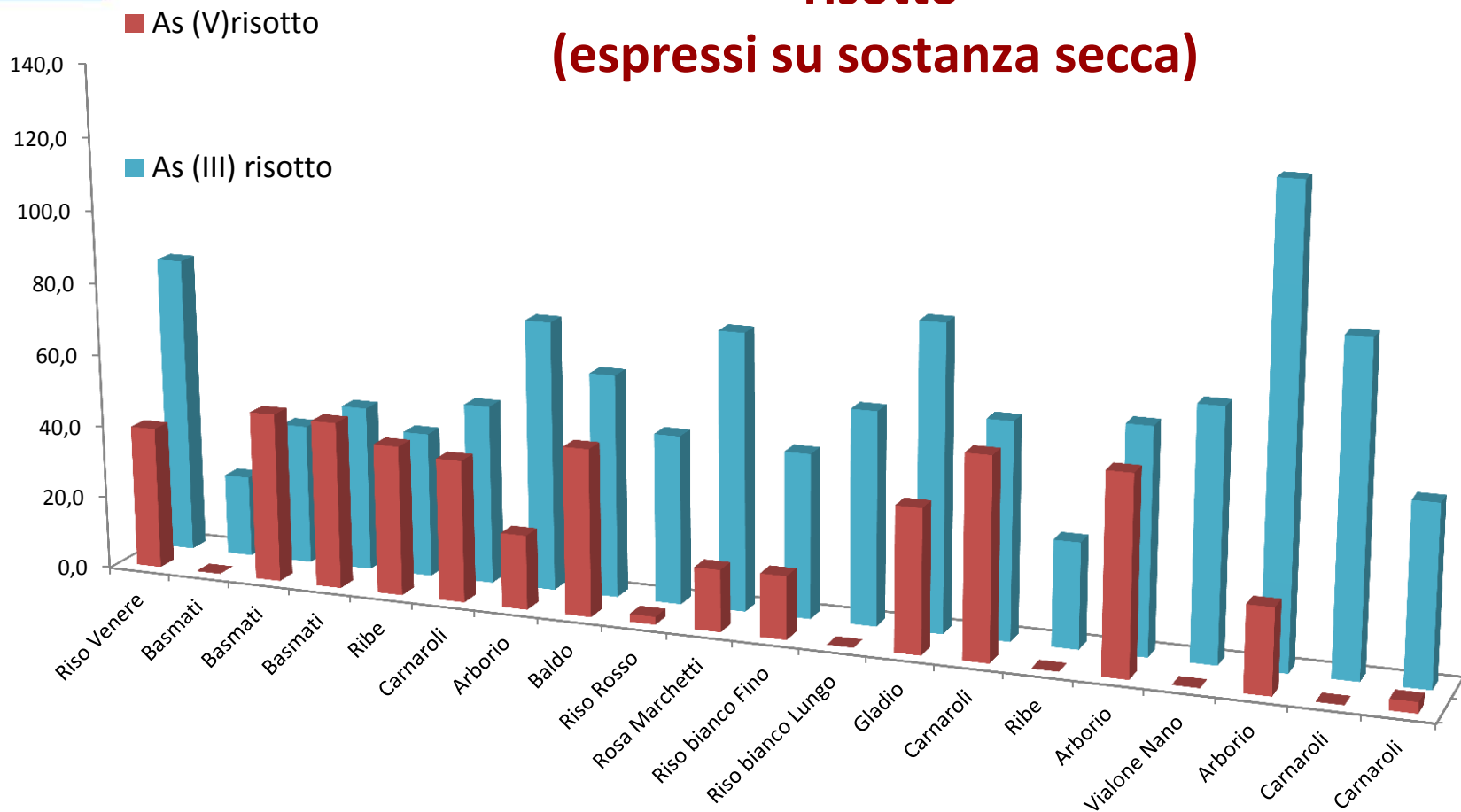
(espressi su sostanza secca)







# Speciazione (AsIII e AsV) risotto (espressi su sostanza secca)

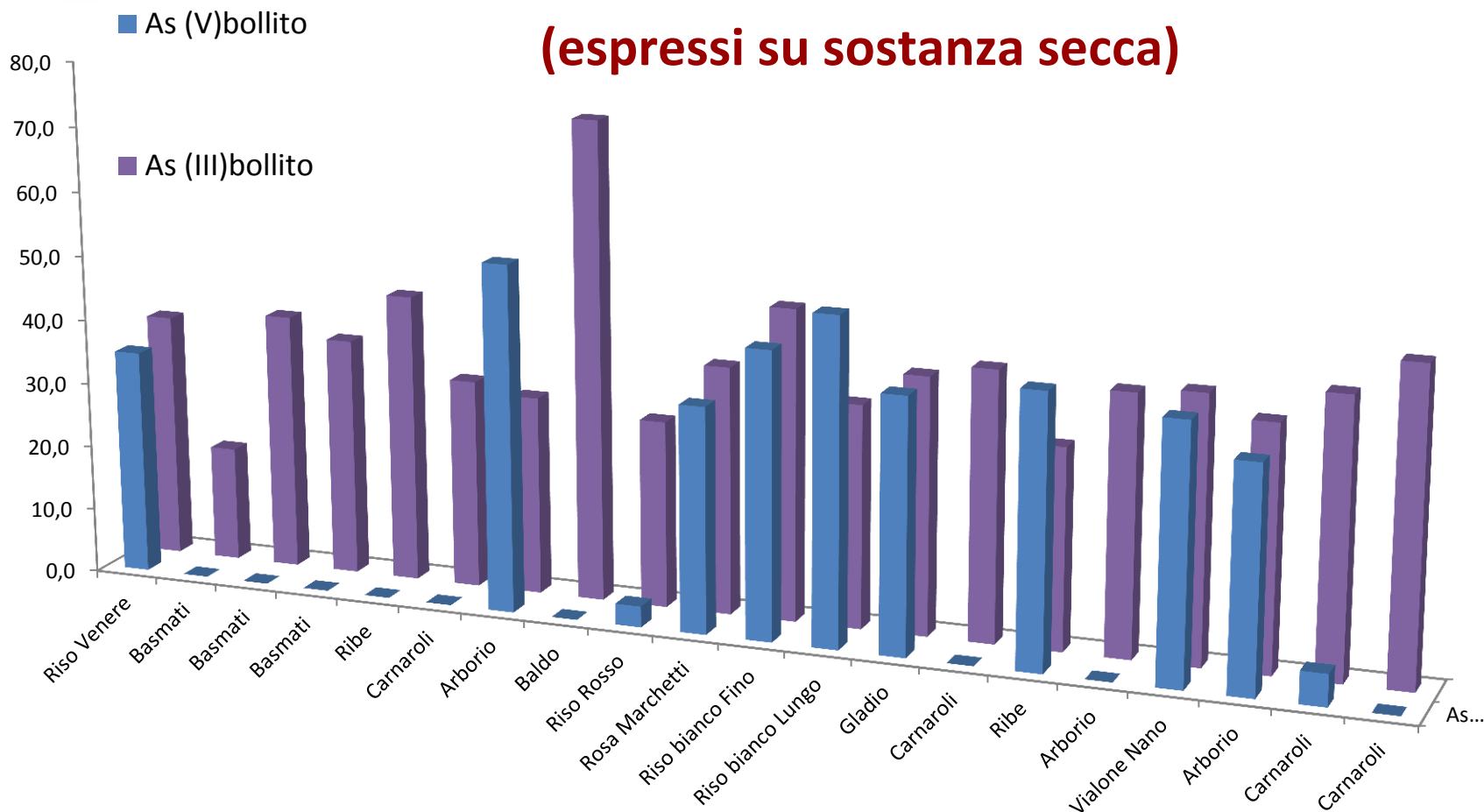




# Speciazione (AsIII e AsV)

## bollito

(espressi su sostanza secca)





# CONCLUSIONI



- ✓ Fra i prodotti ittici la verdesca ha maggior contenuto di TAs ma il p. spada e tonno hanno la % di IAs sul totale più elevata (fino 20%)
- ✓ Tutti i risi sottoposti allo studio risultano conformi dal punto di vista legislativo: Il rapporto fra i-As e T-As è compreso tra il 25-60%
- ✓ Le cotture hanno apportato una diminuzione lineare di arsenico totale, la maggior diminuzione è avvenuta nel riso bollito
- ✓ Le concentrazioni di i-As non si sono modificate significativamente a seguito della cottura: la diminuzione è probabilmente da correlare alla perdita della frazione organica (meno tossica)
- ✓ La specie As (III), prevale sulla specie As (V) nel crudo ma sembra esserci una ossidazione a As (V) legata alla cottura. Le concentrazioni delle altre forme organiche non sono significative

**Annunziata Cannavacciuolo**

**Fabiana Cippi**

**Giorgio Fedrizzi**

**Antonio Ricciardelli**

**Grazie**

