

Indagine preliminare sulla presenza di residui in mangimi completi per l'acquacoltura: ricerca di arsenico, cadmio, cromo, mercurio e piombo

*A preliminary note on residues in aquacultural feed:
arsenic, cadmium, chromium, mercury and lead research*

**Maria Cesarina Abete^{1*}, Marino Prearo¹, Sergio Andruetto¹, Davide Pavino¹,
Silvia Colussi¹, Renata Tarasco¹, Francesco Agnetti², Claudio Ghittino²**

¹ C.Re.A.A. - Centro di Referenza Nazionale per la Sorveglianza ed il Controllo degli Alimenti per gli Animali – Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, Via Bologna, 148 – 10154 Torino

² Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche - Centro di Ittiopatologia e Acquacoltura – Via Salvemini, 1 - 06100 Perugia

RIASSUNTO - La ricerca dei metalli pesanti rappresenta un obiettivo prioritario nell'attività di vigilanza e controllo sui mangimi. In particolare, un monitoraggio della presenza di tali elementi è essenziale per verificare che le concentrazioni di queste sostanze siano inferiori ai limiti consentiti dalla legge. Il contenuto massimo ammesso nei mangimi completi per pesci è regolamentato dal Decreto 23 dicembre 2002, n° 317, nel quale vengono indicati i limiti, espressi in mg/kg, per arsenico, cadmio, mercurio e piombo. Per il cromo ci si attiene alle indicazioni del Piano Nazionale Alimentazione Animale. Nel primo semestre di attività del Centro di Referenza Nazionale per la Sorveglianza ed il Controllo degli Alimenti per Animali, sono stati analizzati 36 mangimi completi commerciali utilizzati in trotticoltura, prelevati in alcuni impianti dell'Italia settentrionale e centrale. Tutti i campioni analizzati erano destinati alla fase d'ingrasso-finissaggio delle trote (Ø pellet 5 mm). Per una maggior rappresentatività della campionatura, ogni campione (2000 g) era costituito da un pool di prelievi effettuati in sacchi diversi della partita presente in allevamento. La determinazione di arsenico, cadmio, cromo e piombo è stata condotta mediante spettrofotometria di assorbimento atomico con atomizzazione elettrotermica e correzione del fondo con effetto Zeeman, utilizzando il metodo delle aggiunte standard per ogni campione, al fine di ridurre le interferenze della matrice. La ricerca del mercurio invece è stata eseguita in spettrofotometria di assorbimento atomico con la tecnica dei vapori freddi, come previsto dal D.M. del 14/12/1971. I limiti di quantificazione (LOQ) delle procedure utilizzate sono: arsenico 0,85 ppm, cadmio 0,01 ppm, cromo 0,80 ppm, mercurio 0,07 ppm e piombo 0,04 ppm. Su tutti i campioni è stata inoltre calcolata l'umidità al fine di esprimere il risultato finale al tasso del 12%, come previsto dal Decreto n° 317. In tutti i campioni di mangimi esaminati per l'arsenico non si è mai superato il limite massimo consentito di 4 ppm con tenore medio di 2,46 ppm. Per il cadmio invece, in due campioni si è potuto rinvenire il superamento del contenuto massimo (0,5 ppm), con concentrazioni di 0,51 ppm e 0,56 ppm (tenore medio 0,20 ppm). Le analisi per il mercurio non hanno mai posto in evidenza il superamento del limite di quantificazione del metodo, a fronte di un livello massimo consentito di 0,1 ppm. Nel caso del piombo, in tutti i campioni è stata rinvenuta una concentrazione significativa, ben al di sopra del LOQ (valore medio pari a 0,24 ppm), ma decisamente inferiore al contenuto massimo consentito di 5 ppm. Il D.M. n° 317 non fissa alcun limite per il cromo, mentre il Piano Nazionale di Vigilanza e Controlli Sanitari sull'Alimentazione degli Animali prevede per tale metallo un limite massimo tollerabile di 3 ppm; nessun mangime analizzato ha superato tale valore: la concentrazione più elevata riscontrata è stata di 1,32 ppm, con un tenore medio pari a 1,04 ppm. Le basse concentrazioni di arsenico, cadmio, cromo e piombo e l'assenza di mercurio denotano come i mangimi per trotticoltura vengano prodotti nel rispetto della legislazione vigente. Il riscontro di questi metalli indica tuttavia come possa sussistere la possibilità di contaminazione della filiera. La presenza di questi elementi potrebbe inoltre costituire un rischio per la salute ed il benessere del pesce.

SUMMARY – One of the most important target in foodstuffs surveillance is the research of heavy metals presence. In particular, the screening of these elements is necessary to keep their concentration in accordance with the limits of the current Italian regulation. Limits, expressed in mg/kg, relative to arsenic, cadmium, mercury and lead foodstuff for fish farming are indicated in the Italian Ministerial Decree n° 317 of December 23rd, 2002. While the National Plane on Animal Feeding gives directions about limits of chromium in complete foodstuff and premixture. Thirty six foodstuff samples, collected in some fish farms from Northern and Central Italy were

analysed in the first six months of activity of the National Institute of Reference. All samples analysed were destined to the phase of stuffing-finishing of the fish product (\varnothing 5 mm). To obtain a more representative sampling, every sample (2000 g) was made of a pool of fishmeal collected from different containers of the same stock used in the fish farming. The determination of arsenic, cadmium, chromium and lead was carried out using atomic absorption spectrometry with electrothermic atomization and background correction with Zeeman effect, adding to each sample standard quantity so to reduce matrix interference. Mercury research instead was carried out using atomic absorption spectrometry with cold steam technique, in accordance with Italian Ministerial Decree of December 14th 1971. The quantification limits (LOQ) of the methods used are the following: arsenic 0,85 ppm, cadmium 0,01 ppm, chromium 0,80 ppm, mercury 0,07 ppm and lead 0,04 ppm, measured at the humidity rate of 12%, as specified in Italian Ministerial Decree n° 317. The presence of arsenic, in every foodstuff sample analysed, never exceeded the limit imposed by the law, that is 4 ppm and the mean value found was of 2,46 ppm. Only two samples, for cadmium, revealed an exceeding of the limit that is 0,5 ppm: we found concentrations respectively of 0,51 ppm and 0,56 ppm and the mean value was of 0,20 ppm. Samples analysed for mercury never revealed exceeding of the maximum limit of 0,1 ppm. A significant concentration of lead, higher than LOQ (mean value of 0,24 ppm) but lower than the maximum limit of 5 ppm, was discovered in each sample analysed. In the Ministerial Decree n° 317 there is not chromium critical limit, while the National Plane on Animal Feeding gives direction about it that is 3 ppm. No one sample analysed exceeded this value and the higher concentration measured was of 1,32 ppm with a mean value of 1,04 ppm. The absence of mercury and the low concentrations of arsenic, cadmium, chromium and lead demonstrate that foodstuffs for fish farming are produced according to the current Italian regulation. In spite of this, the presence of heavy metals reveals the possibility of contamination of the chain production and can constitute a danger also for fish healthiness and wellbeing.

Key words: Aquacultural feed, Arsenic, Cadmium, Chromium, Mercury, Lead

* Corresponding Author: c/o Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, Via Bologna, 148 – 10154 Torino – Italy. Tel. 011-2686238; Fax 011-2474458; E-mail: mariacesarina.abete@izsto.it

INTRODUZIONE

I mangimi completi impiegati in acquacoltura devono contenere materie prime scelte con particolare attenzione alla loro digeribilità ed alla loro ecocompatibilità, per garantire una migliore composizione corporea del pesce. Sono composti principalmente da farina ed olio di pesce, in percentuali variabili a seconda della fase d'allevamento (superiori al 50%). Tali materie prime non sono considerate dei sottoprodotti di lavorazione, ma derivano direttamente da pesce fresco di basso pregio commerciale, che costituisce un prodotto di elevata qualità. Altri costituenti dei mangimi sono le materie prime proteiche di origine vegetale, come farina di soya e sottoprodotti della lavorazione dei cereali utilizzate come leganti. Un tempo venivano utilizzate anche farine di carne e prodotti analoghi (sangue, farina di pollame, ciccioli, ecc.) derivanti da animali eterotermi. La Decisione 2000/766 del Consiglio Comunitario del 4 dicembre 2000, ha vietato per l'alimentazione di tutti gli animali d'allevamento per produzioni di alimenti, e quindi anche per i pesci, l'uso di tali farine, compresa la farina di pesce; successivamente, una nuova Decisione del Consiglio Comunitario (29 dicembre 2000) ha autorizzato l'uso della farina di pesce per l'alimentazione dei pesci allevati e di altri animali diversi dai ruminanti.

I mangimi completi possono presentare il problema della eventuale contaminazione sia da prodotti clorurati organici a lunga persistenza che da metalli pesanti. Rientrano nella categoria chimica dei prodotti clorurati organici i policlorobifenili (PCB), le diossine e gli antiparassitari clorurati organici come il D.D.T. A seconda del mare di provenienza, le farine

possono essere più o meno contaminate da questi prodotti: le concentrazioni più elevate si rilevano nel Mar Baltico e, seppure in misura inferiore nel Mare del Nord e nell'Oceano Atlantico (API, 2003). Per quanto riguarda i metalli pesanti, mercurio, cadmio, piombo, arsenico e cromo, possono essere presenti a diversi livelli di concentrazione nei pesci utilizzati per la preparazione delle farine che entrano nella composizione dei mangimi per acquacoltura. Il Decreto n° 317 del 23 dicembre 2002 stabilisce le concentrazioni massime (arsenico 4 ppm, cadmio 0,5 ppm, mercurio 0,1 ppm e piombo 5 ppm) ammesse nel mangime completo, al fine di garantire che nel pesce destinato all'alimentazione umana l'eventuale presenza di tali sostanze sia contenuta entro i limiti definiti dal Regolamento CE n° 466/2001 e sicuramente accettabili sul piano tossicologico e della tutela della salute del consumatore.

Sempre nel Decreto n° 317, vengono stabiliti i contenuti massimi per altre sostanze e prodotti nei mangimi completi ad uso zootecnico, compresi quelli utilizzati in acquacoltura; di particolare rilevanza i nitriti, l'aflatossina B₁ e il gruppo dei prodotti clorurati organici.

La presenza di residui di metalli nei mangimi completi per i pesci è oggetto dei sistemi di allerta comunitari denominati Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF), nati in seguito alle disposizioni del Regolamento CE 178/2002 del 28 gennaio 2002, che stabilisce i principi e requisiti generali della legislazione alimentare, istituisce l'Autorità Europea per la Sicurezza Alimentare, fissandone le procedure. Un esempio dell'applicazione di tale sistema è quello relativo alla presenza di arsenico superiore ai limiti previsti, segnalata nei mangimi completi per pesci provenienti dalla Danimarca e notificata dalla Germania nell'agosto 2003, con conseguente ritiro dal mercato europeo della partita oggetto di contaminazione.

Arsenico, cadmio, mercurio e piombo hanno come caratteristica comune la tossicità a lungo termine, che si manifesta nell'uomo con effetti tossici anche di notevole gravità. In particolare la tossicità dell'arsenico è correlabile alla sua forma chimica: i composti inorganici bloccano i gruppi sulfidrilici di alcuni enzimi, con conseguente alterazione di numerosi processi metabolici (Abete *et al.*, 2003). Anche il cadmio presenta una forte affinità per i gruppi -SH e la sua tossicità dipende dalla quantità assunta e dalla sua struttura chimica (formazione di complessi) (Abete *et al.*, 2003). Il mercurio può portare a tossicità cronica a causa di esposizioni per lungo tempo a basse concentrazioni; è nota l'alta pericolosità dei composti organici quali il metilmercurio (U.S. EPA, 2001; Abete *et al.*, 2002). L'assorbimento del piombo può costituire un rischio sanitario, fino a generare fenomeni di intossicazione cronica (saturnismo) con anemia e fenomeni tossici a livello renale e neurologico.

Il cromo non rientra fra le sostanze indesiderabili per le quali è previsto un limite massimo di accettabilità; tuttavia, risulta essere naturalmente presente in alcune materie prime in forma organica, oppure come contaminante nelle farine di pesce. Il Piano Nazionale di Vigilanza e Controllo Sanitario sull'Alimentazione degli animali indica in 3 ppm il limite massimo tollerabile di questo metallo nel mangime completo. In caso di superamento di tale valore, il Piano consiglia di effettuare indagini suppletive onde poter risalire alla fonte primaria di contaminazione. Anche per questo elemento è descritta una tossicità cronica nell'uomo fino ad arrivare all'effetto cancerogeno del cromo esavalente (Abete *et al.*, 2003).

Il lavoro di ricerca svolto ha avuto lo scopo di valutare la presenza di residui di contaminanti ambientali, quali alcuni metalli pesanti, in mangimi completi utilizzati in itticoltura e di valutare il loro livello di contaminazione.

La presente indagine è stata sviluppata nell'ambito del Centro di Referenza Nazionale per la Sorveglianza ed il Controllo degli Alimenti per Animali (C.Re.A.A.) di recente istituzione (febbraio 2003) presso l'IZS di Torino, coinvolgendo le unità operative di ittiopatologia ed acquacoltura e sicurezza ambientale.

MATERIALI E METODI

Sono stati analizzati 36 campioni di mangime completo commerciale, impiegati in trotticoltura, aventi un diametro di 5 mm, identificati con un numero progressivo in base alla data di arrivo al laboratorio. Il campionamento è stato condotto da personale del Centro di Referenza Nazionale nel periodo compreso tra marzo e agosto 2003 presso alcune trotticoltura dell'Italia settentrionale e centrale. Ogni campione, costituito da almeno 2 Kg di mangime, è stato ottenuto prelevando da sacchi diversi della stessa partita onde costituire un pool rappresentativo per le indagini. Tutti i mangimi sono stati posti all'interno di sacchetti di plastica ad uso alimentare per evitare problemi di cessione e successivamente posti in contenitori di plastica per proteggerli dall'esposizione solare ed assicurarne la conservabilità.

Una volta giunti in laboratorio, i campioni sono stati sottoposti ad opportuno sminuzzamento e quindi accuratamente omogeneizzati. Dal prodotto così ottenuto sono stati pesati 2 g per la ricerca del mercurio e 0,7 g per la ricerca di arsenico, cadmio, cromo e piombo; tutte le analisi sono state condotte in doppio.

Per la ricerca del mercurio la mineralizzazione dei campioni è stata condotta per via umida; ai 2 g aliquotati sono stati aggiunti 6 ml di miscela solfo-nitrica (anaparti di acido solforico ed acido nitrico), lasciati reagire a temperatura ambiente e quindi immersi in bagnomaria per un ora ad 80° C, fino ad ottenere una soluzione limpida. La soluzione di digestione del campione, previo raffreddamento, è stata portata al volume di 100 ml con acqua ultrapura. Per gli altri metalli invece la mineralizzazione è avvenuta in forno a microonde: agli 0,7 g aliquotati sono stati aggiunti 6 ml di acido nitrico concentrato, 1,5 ml di acqua ossigenata al 30% e 0,5 ml di acido fluoridrico concentrato; il campione così trattato è stato avviato direttamente al ciclo di mineralizzazione in forno a microonde per 20 minuti. La soluzione ottenuta, una volta raffreddata, è stata portata al volume di 10 ml con acqua ultrapura.

Le determinazioni spettrofotometriche dei metalli sono state condotte con i parametri operativi riportati nella tabella 1. La lettura strumentale del mercurio è stata eseguita con la tecnica dei vapori freddi, dopo riduzione del mercurio con cloruro stannoso; quella per i restanti contaminanti è stata condotta mediante atomizzazione elettrotermica e correzione del fondo con effetto Zeeman, utilizzando il metodo delle aggiunte standard per ogni campione.

Parametri operativi	Arsenico	Cadmio	Cromo	Mercurio	Piombo
Misura strumentale	Assorbanza	Assorbanza	Assorbanza	Assorbanza	Assorbanza
Metodo calibrazione	Addizione standard	Addizione standard	Addizione standard	Retta di calibrazione	Addizione standard
Modo di misura	Area del picco	Area del picco	Area del picco	Altezza del picco	Area del picco
Fenditura	0,7 nm	0,7 nm	0,7 nm	0,7 nm	0,7 nm
Lunghezza d'onda	193,7 nm	228,8 nm	357,9 nm	253,7 nm	283,3 nm

Tabella 1 – Parametri operativi dei vari metalli pesanti ricercati
Table 1 – Operative parameters of the heavy metals investigated

I limiti di quantificazione (LOQ) delle procedure utilizzate sono: 0,85 mg/kg (ppm) per arsenico, 0,01 mg/kg per cadmio, 0,80 mg/kg per cromo, 0,07 mg/kg per mercurio e 0,04 mg/kg per piombo. Si è valutata inoltre l'umidità dei campioni, tramite bilancia umidimetrica, onde esprimere il risultato finale al tasso del 12% di umidità.

RISULTATI

Nella tabella 2 sono riportate le concentrazioni dei metalli, espresse in mg/kg (ppm) ed al tasso di umidità del 12%, come previsto dal Decreto 317.

Per quanto riguarda l'arsenico 8 campioni su 36 sono risultati superiori al limite di quantificazione del metodo, con un valore medio di 2,46 ppm ed una deviazione standard di 0,63; la concentrazione più elevata è stata riscontrata nel mangime identificato come 4 con un livello di 3,40 ppm.

In 30 mangimi è stata rinvenuta una concentrazione significativa, superiore al LOQ, di cadmio con un livello medio di 0,20 ppm ed una deviazione standard di 0,15; per questo elemento si è potuto rilevare come in due campioni di mangime si è superato il limite di legge consentito con concentrazioni di 0,56 ppm nel mangime 4 e 0,51 ppm nel mangime 25.

Il cromo è risultato non quantificabile in 22 campioni; nei restanti 14 la concentrazione media è stata di 1,04 ppm con una deviazione standard di 0,18 ed un valore massimo, riscontrato nei mangimi 4 e 15, pari ad 1,32 ppm.

Nel caso del mercurio tutti i campioni sono risultati inferiori al limite di quantificazione del metodo.

Tutti i mangimi hanno invece presentato un tenore di piombo quantificabile da un minimo di 0,06 ppm ad un massimo di 0,45 ppm (mangimi 1 e 20) con un valore medio di 0,24 ppm ed una deviazione standard di 0,11.

DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

In tutti i mangimi analizzati le concentrazioni dei metalli ricercati sono risultate, per la maggior parte, al di sotto dei limiti previsti dal Decreto 317.

Per l'arsenico il contenuto massimo previsto da tale normativa è di 4 ppm; in nessun caso si è superato questo limite, raggiungendo una concentrazione massima di 3,40 ppm. Da notare come di 36 campioni solamente 8 (22%) presentavano dei valori superiori al Limite di Quantificazione del metodo: ciò denota come tali prodotti possano ritenersi scarsamente contaminati da questo metallo, nonostante l'alta percentuale di farina di pesce presente.

Il cadmio invece è risultato essere presente in quantità significative nell'83% dei campioni (30 su 36) con una concentrazione media pari a 0,20 ppm; inoltre in due campioni si è superato il limite massimo consentito di 0,50 ppm con valori di concentrazioni molto prossime al limite stesso. Per tale elemento quindi il livello di contaminazione risulta relativamente alto in quanto il valore medio si attesta a circa la metà della concentrazione di legge. D'altronde, da recenti studi condotti sulla contaminazione da cadmio nei prodotti dell'acquacoltura risulterebbe come i pesci d'allevamento non presentino tenori significativi di tale metallo nelle parti edibili (Abete *et al.*, 2003).

Il 61% dei campioni analizzati per cromo (22) non ha presentato livelli quantificabili; i restanti 14 mangimi hanno evidenziato tenori variabili da 0,82 ppm ad 1,32 ppm, senza mai superare il valore di 3 ppm, considerato sospetto dal Piano di Vigilanza e Controllo sull'Alimentazione Animale.

Campione	Concentrazioni espresse in mg/kg (ppm)				
	Arsenico	Cadmio	Cromo	Mercurio	Piombo
Mangime 1	1,31	0,09	0,98	< 0,07	0,45
Mangime 2	< 0,85	< 0,01	< 0,80	< 0,07	0,06
Mangime 3	< 0,85	0,28	< 0,80	< 0,07	0,31
Mangime 4	3,40	0,56	1,32	< 0,07	0,33
Mangime 5	< 0,85	< 0,01	< 0,80	< 0,07	0,12
Mangime 6	< 0,85	0,04	< 0,80	< 0,07	0,15
Mangime 7	< 0,85	0,27	0,83	< 0,07	0,24
Mangime 8	2,69	0,32	1,05	< 0,07	0,35
Mangime 9	< 0,85	0,30	0,83	< 0,07	0,29
Mangime 10	< 0,85	< 0,01	< 0,80	< 0,07	0,06
Mangime 11	< 0,85	0,10	< 0,80	< 0,07	0,30
Mangime 12	2,45	0,37	1,09	< 0,07	0,37
Mangime 13	< 0,85	0,06	< 0,80	< 0,07	0,16
Mangime 14	< 0,85	0,11	< 0,80	< 0,07	0,25
Mangime 15	3,10	0,41	1,32	< 0,07	0,39
Mangime 16	< 0,85	0,03	< 0,80	< 0,07	0,15
Mangime 17	< 0,85	0,08	< 0,80	< 0,07	0,18
Mangime 18	< 0,85	0,11	0,86	< 0,07	0,29
Mangime 19	< 0,85	0,01	< 0,80	< 0,07	0,12
Mangime 20	2,20	0,40	1,23	< 0,07	0,45
Mangime 21	< 0,85	0,08	< 0,80	< 0,07	0,19
Mangime 22	< 0,85	0,12	< 0,80	< 0,07	0,21
Mangime 23	< 0,85	< 0,01	< 0,80	< 0,07	0,08
Mangime 24	< 0,85	0,09	< 0,80	< 0,07	0,18
Mangime 25	2,32	0,51	1,18	< 0,07	0,43
Mangime 26	< 0,85	0,17	< 0,80	< 0,07	0,28
Mangime 27	< 0,85	0,23	0,97	< 0,07	0,22
Mangime 28	< 0,85	0,18	0,82	< 0,07	0,26
Mangime 29	< 0,85	< 0,01	< 0,80	< 0,07	0,16
Mangime 30	< 0,85	0,13	< 0,80	< 0,07	0,27
Mangime 31	< 0,85	0,05	< 0,80	< 0,07	0,19
Mangime 32	2,21	0,46	1,12	< 0,07	0,40
Mangime 33	< 0,85	0,08	< 0,80	< 0,07	0,17
Mangime 34	< 0,85	0,20	0,99	< 0,07	0,27
Mangime 35	< 0,85	< 0,01	< 0,80	< 0,07	0,08
Mangime 36	< 0,85	0,16	< 0,80	< 0,07	0,23

Tabella 2 – Concentrazioni di metalli pesanti rilevati nei mangimi completi analizzati
 Table 2 – Heavy metals concentrations relived in complete feed analyzed

A fronte dei dati ottenuti, rispetto a quanto definito dal suddetto Piano, la contaminazione del cromo risulta essere poco rilevante sia in termini quantitativi che nel numero dei campioni.

I dati delle analisi effettuate per la ricerca del mercurio sono stati, in tutti i mangimi, al di sotto del limite di determinazione del metodo. Considerando il contenuto massimo previsto dalla legge (0,5 ppm) e l'estrema diffusione di questo metallo nell'ecosistema acquatico marino, i risultati ottenuti fanno pensare ad una efficace attività di autocontrollo nella filiera produttiva, tenendo conto anche dell'effetto di diluizione che le farine ittiche subiscono nella preparazione dei mangimi completi.

In tutti i campioni è stato rinvenuto il piombo in concentrazioni oscillanti tra 0,06 ppm (valore prossimo al limite di quantificazione) e 0,45 ppm. Confrontando il valore massimo rinvenuto con il livello consentito dalla legislazione vigente (5 ppm), il rapporto fra le due concentrazioni è inferiore ad 1/10; quindi la contaminazione di questo elemento, seppur sempre presente, risulta essere trascurabile.

Gli accertamenti analitici sono stati effettuati in conformità a quanto previsto dalle metodiche comunitarie di riferimento per cadmio, mercurio e piombo. Per arsenico e cromo, le indagini sono state espletate adottando metodi nazionali scientificamente riconosciuti. In tutti i casi è stato definito un limite di quantificazione (LOQ). Il limite di quantificazione o di determinazione di un metodo è la minima concentrazione di analita in una definita matrice che può essere rivelata e quantificata con un definito grado di precisione ed accuratezza nelle condizioni sperimentali del metodo (Eurachem/Welac, 1998). I limiti di quantificazioni delle metodiche sopra espresse sono stati calcolati in base a quanto definito da Procedura Gestionale Standard, che prevede un valore di LOQ preferibilmente non superiore a 0,5 volte il limite di legge. La precisione e l'accuratezza del LOQ (Norma ISO 3534-1, 1993) è stata calcolata utilizzando materiale di riferimento certificato specifico per ogni metallo, sul quale è stata eseguita una serie di prove indipendenti nelle stesse condizioni sperimentali. Il grado di accuratezza è stato calcolato come recupero percentuale medio, mentre la precisione (ripetibilità ristretta) è stata calcolata come deviazione standard relativa percentuale. Quindi, in tutti i campioni in cui la concentrazione dei metalli è risultata essere inferiore al LOQ del metodo non significa che il metallo è assente, ma che la concentrazione che ne risulterebbe dall'analisi non può essere definita con un certo grado di accuratezza e precisione che deve essere invece garantito.

I Limiti di Quantificazione delle procedure operative impiegate per gli accertamenti analitici effettuati rispondono pienamente ai requisiti della legislazione in quanto sono per tutti i metalli ben al di sotto della metà del contenuto massimo consentito, con un range che varia dall'8% nel caso del piombo (LOQ pari a 0,04 ppm su 5 ppm di limite massimo consentito) al 27% del cromo (0,80 ppm su 3 ppm).

Alla luce dei risultati ottenuti ed in base alla recente bibliografia relativa ai tenori in metalli pesanti in prodotti dell'acquacoltura (Abete *et al.*, 2002; 2003) si ritiene opportuno intensificare tale tipologia d'indagine in termine di numerosità campionaria al fine di ottenere un numero minimo, almeno 100 mangimi, utile ai fini statistici. Può essere inoltre interessante estendere la ricerca di tali contaminanti involontari alle materie prime, sia di natura ittica che vegetale, allo scopo di stabilire l'effettivo apporto di questi metalli al prodotto finito. Infine, può essere utile studiare il passaggio dei suddetti contaminanti nella catena alimentare, intesa come materia prima/mangime completo/prodotto ittico, per valutare sia l'impatto della contaminazione sul pesce come alimento (sicurezza alimentare), sia l'influenza di tali metalli sulle condizioni di vita del pesce stesso (benessere animale).

E' noto come l'effetto di tali contaminanti in piccole dosi provochi uno stato di intossicazione subcronica che induce una riduzione dell'attività del sistema immunocompetente dei pesci, favorendo l'insorgenza di patologie secondarie che possono

portare mortalità a stilloidio. Inoltre, la presenza di tracce di questi metalli, che alterano in parte le attività metaboliche normali, contribuisce ad un peggioramento delle condizioni di vita in vasca, gravando sul benessere del pesce.

BIBLIOGRAFIA

Abete M.C., Rela E., Tarasco R., Pavoletti E., Pavino D., Arsieni P. & Prearo M. (2003): Analisi preliminare sulla presenza di arsenico totale in prodotti ittici nazionali e d'importazione. *Boll. Soc. It. Patol. Ittica*, 37: 18-23.

Abete M.C., Rela E., Tarasco R., Vignali C., Arsieni P., Condò C. & Prearo M. (2002): Indagine sulla presenza di mercurio in pesci provenienti dal Lago Maggiore. *Boll. Soc. It. Patol. Ittica*, 35: 21-31.

Abete M.C., Tarasco R., Locatelli L., Pavino D., Campo Dall'Orto B., Gavinelli S. & Prearo M. (2003): Livelli di cadmio e cromo in pesci d'acqua dolce: nota preliminare. *Boll. Soc. It. Patol. Ittica*, 37: 36-42.

Autori vari (2003) - Linee guida e specifiche tecniche per la certificazione di prodotto delle spigole ed orate di acquacoltura. *A.P.I., Ricerca e sviluppo dell'Acquacoltura*, 5: 1-36.

Autori vari (2003) – Linee guida e specifiche tecniche per la certificazione di prodotto delle trote di acquacoltura. *A.P.I., Ricerca e sviluppo dell'Acquacoltura*, 6: 1-36.

Decisione 2000/766/CE – Decisione del Consiglio del 4 dicembre 2000 relativa a talune misure di protezione nei confronti delle encefalopatie spongiformi trasmissibili e la somministrazione di proteine animali nell'alimentazione degli animali. *Gazzetta Ufficiale delle Comunità Europee*, L306/32 del 07/12/2000.

Decisione 2000/9/CE – Decisione della Commissione del 29 dicembre 2000 in merito a misure di controllo necessarie per l'attuazione della decisione 2000/766/CE del Consiglio concernente certe misure di protezione relative alle encefalopatie spongiformi trasmissibili e alla somministrazione di proteine animali. *Gazzetta Ufficiale delle Comunità Europee*, L2/32 del 05/01/2001.

Decreto 23 dicembre 2002, n. 317 – Regolamento interministeriale recante norme di attuazione della direttiva 1999/29/CE, relativa alle sostanze ed ai prodotti indesiderabili nell'alimentazione degli animali. *Gazzetta Ufficiale del 07 luglio 2003*, 155.

Eurachem/Welac (1998). The fitness for purpose of analytical methods. Ed. S.L.R. Ellison, M. Rosslein, a Williams.

ISO 3534-1 (1993). Metodi statistici per il controllo di qualità.

Regolamento CE N. 466/2001 – Regolamento della Commissione dell'8 marzo 2001 che definisce i tenori massimi di taluni contaminanti presenti nelle derrate alimentari. *Gazzetta Ufficiale delle Comunità Europee*, L77/1 del 16/03/2001

Regolamento CE N. 178/2002 – Regolamento del Parlamento Europeo e del Consiglio del 28 gennaio 2002 che stabilisce i principi e i requisiti generali della legislazione alimentare, istituisce l'Autorità europea per la sicurezza alimentare e fissa procedure nel campo della sicurezza alimentare. *Gazzetta Ufficiale delle Comunità Europee*, L31/1 del 01/02/2002.

US EPA (Environmental Protection Agency) (2001) – Mercury update: impact on fish advisories.
EPA 823-F-01-011. Office of Water, Washington D.C.: 1-10.