

HERA Ambiente

Progetto “*Capiamo*” 2021: risultati analitici e relative considerazioni.

Tra gli insetti pronubi, le api “da miele” (*Apis mellifera*) presentano caratteristiche biologiche, fisiologiche ed etologiche che le rendono degli ottimi marker della qualità ambientale.

All'interno di un'area di 7 km² le api bottinatrici di un singolo alveare possono arrivare a raccogliere fino a 10000 micro-campioni dalle matrici ambientali aria, acqua e suolo. I risultati numerici prodotti dall'analisi chimica e bio-chimica dei campioni raccolti devono essere letti sempre valutando tutti i fattori ambientali, climatici e zootecnici che influenzano le singole unità (api) e lo stato sanitario di un SUPER-organismo più grande e complesso, l'alveare.



Il progetto *Capiamo* 2021 è stato realizzato in collaborazione con la Dott.ssa Serena M. R. Tulini.

Indice

1. Premessa.	Pag. 3
<i>1.1 Analisi dei dati</i>	
2. Descrizione del progetto <i>Capiamo</i>: obiettivi, caratteristiche distintive e fasi di sviluppo..	Pag. 6
3. Sviluppo e produttività degli alveari.	Pag. 8
<i>3.1 Il miele</i>	
4. Risultati e relative considerazioni.	Pag. 10
<i>4.1 Anioni.</i>	
<i>4.2 Idrocarburi policiclici aromatici (IPA).</i>	
<i>4.3 Metalli pesanti.</i>	
<i>4.4 Pesticidi.</i>	
5. Conclusioni.	Pag. 20
6. Riferimenti bibliografici e normativi.	Pag. 22

1. Premessa.

Le diverse categorie tossicologiche immesse nell'ambiente come risultato delle attività antropiche rivolte alla produzione di beni e servizi (oggettistica, elettronica e altri beni di consumo, abbigliamento, farmaci, prodotti alimentari, trasporto, riscaldamento domestico, ecc.) si distribuiscono tra atmosfera, idrosfera, geosfera e biosfera. In quest'ultimo comparto è possibile osservare fenomeni di bioaccumulo e di biomagnificazione, che determinano l'accumulo di alcune sostanze (lipofile e altamente persistenti) nei grassi animali e l'aumento delle relative concentrazioni lungo la catena trofica. La presenza di residui estranei alla normale composizione di un alimento, dell'aria o dell'acqua, espone il consumatore ad intossicazioni di tipo acuto (alterazioni immediate dell'equilibrio fisiologico dell'organismo) o ad intossicazioni di tipo cronico (piccole alterazioni dell'equilibrio fisiologico, che si sommano nel tempo ed espongono l'organismo all'azione di altri fattori stressanti). Alterazioni fisiologiche da stress tossici sono comuni nell'uomo e negli animali. Dagli inizi del '900 è nota la particolare sensibilità di alcuni organismi, definiti *bio-indicatori* o *bio-markers*, capaci di segnalare precocemente alterazioni della qualità ambientale. Tra gli insetti pronubi, le api da miele (*Apis mellifera*), insetto ubiquitario facile da allevare e caratterizzato da una fine organizzazione sociale, sono state definite bio-indicatori ideali (Stöcker, 1980) e numerosi studi sono stati incentrati sull'utilizzo delle api e dei loro prodotti nella valutazione dell'inquinamento ambientale (Anderson e Atkins, 1958; Anderson e Tuff, 1952; Celli, 1983; Celli e Gattavecchia, 1983; Celli et al., 1985; Celli e Porrini, 1987; Ricciardelli D'albore et al., 1993; Costa et al., 2019; e altri ancora, vedi bibliografia). Un alveare infatti esegue circa 10 mila micro-campionamenti giornalieri tra le varie matrici ambientali (aria, acqua, suolo), dagli organismi vegetali (polline, nettare, resine/propoli) e da altri insetti (melata, deiezioni zuccherine originate dalla digestione della linfa da parte di insetti omotteri e rincoteri) in un'area di circa 7 Km². Un alveare trasporta fino a ½ litro di acqua al



giorno e ½ litro di nettare e, le strette interazioni sociali garantiscono un'ampia diffusione delle sostanze chimiche tra i diversi tessuti dell'alveare. L'analisi chimica di diverse matrici analitiche, selezionate tra questi tessuti, consente una valutazione qualitativa e quantitativa degli inquinanti ambientali, mentre eventuali squilibri riscontrati sul super-organismo segnalano una cattiva qualità ambientale e rappresentano un segnale precoce di pericolo per la conservazione delle biodiversità e per la salute umana. Nei progetti di bio-monitoraggio con api, gli individui dell'alveare rappresentano il primo punto di interazione tra il super organismo alveare e l'ambiente. Pertanto l'analisi chimica della matrice "api" consente di monitorare i livelli ambientali degli inquinanti, prima del loro ingresso nella biosfera. Il miele, prodotto alimentare di origine vegetale "semi-lavorato" dalle api, consente di misurare i livelli di inquinamento associati alla bio-massa vegetale, nonché i possibili rischi di esposizione umana attraverso i prodotti del settore agricolo. I progetti di biomonitoraggio che negli ultimi anni sono stati finanziati da aziende private (<https://www.ilpianetanaturale.org/approfondimenti/biomonitoraggio-2/>) hanno invece permesso di approfondire l'utilizzo della cera ai fini di una valutazione tossicologica approfondita, mirata all'identificazione dei rischi per la salute umana associati a fenomeni di bioaccumulo nei tessuti adiposi mediante diverse vie di esposizione oltre quella alimentare (Tulini et al., 2020).

1.1 Analisi dei dati.

Durante l'anno di indagine, che procede dal 1 Gennaio al 31 Dicembre, sono state eseguite 2 campagne di campionamento e analisi su diversi tessuti dell'alveare. I risultati ottenuti dall'analisi chimica delle matrici api, miele e cera sono confrontati con altri dati scientifici presenti in bibliografia e riportati alla fine del presente documento. I risultati analitici inoltre, vengono confrontati con i limiti massimi residuali (LMR) sanciti dalla normativa vigente per diverse categorie tossicologiche su matrici alimentari (inclusi mangimi di origine vegetale e animale). Nel settore alimentare, il rispetto di tali limiti è una discriminante fondamentale per l'autorizzazione alla commercializzazione dei prodotti ed è una delle misure fondamentali per garantire la sicurezza del consumatore finale. Il limite massimo residuale di ogni sostanza viene stabilito in base alla ADI (dose giornaliera accettabile), dose di *sostanza x* che assunta giornalmente



non determina fenomeni di intossicazione apprezzabili, sia nel breve che nel lungo periodo. Tali limiti sono stabiliti a partire da norme comunitarie, su diversi tipi di alimenti, sull'acqua utilizzata a scopo di bevanda o di irrigazione e su qualsiasi elemento che possa avere un contatto con i prodotti alimentari destinati al consumo. Per delucidazioni ed approfondimenti si rimanda ai testi citati nei riferimenti bibliografici e normativi alla fine di questo documento. Si ricorda inoltre che annualmente l'Italia, come altri paesi europei, esegue il Piano Nazionale Residui (PNR) per verificare i livelli di concentrazione medi delle sostanze tossiche in diversi tipi di alimenti e per adottare in caso di necessità delle misure atte a garantire la tutela dei consumatori. Attualmente, i limiti massimi delle sostanze analizzate per il presente progetto non sono stabiliti direttamente sui prodotti dell'apicoltura.

Non esistono LMR per matrice api e per la cera (quest'ultima presenta LMR per pochi acaricidi solo se applicata nel settore biologico), ma nel PNR il miele viene campionato e analizzato al fine di determinare e quantificare possibili residui di metalli pesanti, fitofarmaci e antibiotici. Tuttavia, mentre per metalli pesanti e fitosanitari l'origine della contaminazione è ambientale, per quanto riguarda gli antibiotici la loro presenza nel miele è generalmente segnale di un uso fraudolento di questi farmaci da parte dell'apicoltore. Gli antibiotici pertanto non sono inclusi tra le categorie tossicologiche analizzate per questo progetto. Per approfondimenti si rimanda alla pagina web www.salute.gov.it/portale/news.

Nonostante la carenza di riferimenti normativi, numerosi sono gli studi scientifici focalizzati su una valutazione quali-quantitativa di diverse categorie tossicologiche nelle matrici dell'alveare che offrono un valido supporto per l'analisi e la comprensione dei dati (vedi ultimo capitolo). Per quanto riguarda i residui di idrocarburi policiclici aromatici (IPA) misurati nella cera (tessuto di natura lipidica e organo strutturalmente fondamentale per l'alveare), questi vengono confrontati con i LMR stabiliti su matrici grasse di origine animale al fine di ottenere una valutazione dei fenomeni di bioaccumulo e biomagnificazione che si verificano lungo la catena trofica e che interessano il tessuto lipidico degli animali, uomo incluso.

2. Descrizione del progetto “Capiamo”: obiettivi, caratteristiche distintive e fasi di sviluppo.

Il progetto “Capiamo” nasce con l’obiettivo di contribuire alla ricerca scientifica per la tutela ambientale, creando una raccolta dati utile ad esplorare le potenzialità delle api come organismi marker della qualità ambientale, al fine di tutelare questi insetti impollinatori e di fornire un contributo per garantire la tutela dell’ambiente, delle bio-diversità e quindi del benessere comune.

Il progetto è stato avviato nella primavera del 2020 con l’installazione di una stazione di biomonitoraggio costituita da tre alveari, presso il termovalorizzatore di Herambiente a Pozzilli, in provincia di Isernia. Nel 2021 il progetto è stato ampliato con l’inserimento di una stazione di bio-monitoraggio costituita da 3 alveari anche nel comune di Sant’Agata Bolognese (BO), presso l’impianto di compostaggio con produzione di biometano di Herambiente, sito in via Romita 1.

Scopo della presente relazione tecnica è di illustrare gli esiti del progetto di biomonitoraggio “Capiamo” realizzato presso il sito impiantistico di Herambiente nel comune di S.Agata Bolognese. Le attività, come anticipato, sono state avviate nella primavera del 2021 con l’installazione di 3 alveari all’interno del sito impiantistico di Herambiente allo scopo di monitorare un’area più ampia e complessa, situata nella pianura bolognese, al confine con la provincia di Modena, nella quale si collocano attività industriali, artigianali e agricole

Le analisi chimiche sono state eseguite su matrici: api, miele e cera, per la ricerca di 4 categorie tossicologiche: anioni, idrocarburi policiclici aromatici (IPA), metalli pesanti e pesticidi.

Secondo i parametri riportati nella Scheda 1, l’area oggetto di indagine tossicologica è un’area metropolitana, tuttavia, gran parte del territorio circostante è impegnato da attività di tipo agricolo. .

Scheda 1: *classificazione dell’area oggetto di indagine in base all’impatto antropico definito secondo i parametri elencati e i relativi valori di riferimento.*

Classificazione dell'area monitorata	Parametri di valutazione	Valori di riferimento
Agricola	centri abitati	< 30000



Serena Maria Rita Tulini
Medico veterinario
Via Antica Cattedrale n.30, 64100 Teramo, Italy.
Tel. +39 0861266988
Cell. +39 3286675435
P.iva 02005850678

Classificazione dell'area monitorata	Parametri di valutazione	Valori di riferimento
Categorie tossicologiche: pesticidi e anioni	SAU/SAT	≥ 75%
	nuclei industriali	assenti
	Infrastrutture pubbliche	carenti
	Infrastrutture economiche	SP e FS
Industriale Categorie tossicologiche: anioni, pcdd/f _s , pcb, ipa, met. pesanti	centri abitati	< 30000
	SAU/SAT	< 30%
	nuclei industriali	presenti entro 3 Km
	Infrastrutture pubbliche	carenti
	Infrastrutture economiche	SS e FS
Mista Categorie tossicologiche: anioni, pcdd/f _s , pcb, ipa, met. pesanti, pesticidi	centri abitati	< 30000
	SAU/SAT	30 % < x < 75 %
	nuclei industriali	presenti
	Infrastrutture pubbliche	presenti
	Infrastrutture economiche	SP, SS e FS
Urbana Categorie tossicologiche: anioni, pcdd/f _s , pcb, ipa, met. pesanti	centri abitati	> 30000
	SAU/SAT	< 30 %
	nuclei industriali	assenti/marginali
	Infrastrutture pubbliche	presenti
Metropolitana Categorie tossicologiche: anioni, pcdd/f _s , pcb, ipa, met. pesanti	Infrastrutture economiche	SS, Autostrada e FS
	centri abitati	> 100000
	SAU/SAT	< 30 %
	nuclei industriali	Presenti entro 15 Km
	Infrastrutture pubbliche	presenti
Parco Categorie tossicologiche: nessuna	Infrastrutture economiche	SS, FS, Autostrada, Aeroporto
	centri abitati	assenti
	SAU/SAT	100% boschivo o nativo
	nuclei industriali	assenti
	Infrastrutture pubbliche	assenti
	Infrastrutture economiche	minima rete stradale o FS

3. Sviluppo e produttività degli alveari.

Tre famiglie di api sono state trasferite presso l'impianto di compostaggio con produzione di biometano di S. Agata Bolognese in data 08/04/2021. Gli sciami inizialmente disposti su 6 telaini (4 covata e 2 scorte), hanno presentato un buono e tranquillo accrescimento nel primo mese ma, intensi fenomeni di sciamatura a partire dal mese di giugno e il maltempo che ha investito il nord-Italia fino alla prima metà del mese di luglio, hanno ostacolato le attività di bottinatura essenziali per la produzione di miele, ostacolando il pieno sviluppo degli alveari e riducendone sensibilmente la forza. I controlli eseguiti per il contenimento di eventuali infestazioni da parte del parassita *Varroa destructor* hanno rivelato a luglio e ad ottobre meno di 10 *Varroa* x arnia. I trattamenti profilattici anti-*varroa* sono stati organizzati nel periodo agosto/novembre 2021, suddivisi in 3 somministrazioni di diversi farmaci tra quelli autorizzati. Il primo trattamento è stato eseguito il 12 Agosto 2021 e il secondo dopo 40 giorni, entrambi con *Apivar* (strisce pronte all'uso *Veto Pharma*, 12 Rue de la Croix Martre, 91120 Palaiseau, Francia) seguendo la posologia raccomandata. Il 3° e ultimo trattamento è stato eseguito con acido ossalico gocciolato alla fine di novembre, in presenza del naturale blocco di covata invernale.

3.1 Il miele.

Gli alveari collocati per Herambiente nel sito impiantistico di S. Agata Bolognese hanno prodotto nel 2021 meno di 10 Kg di miele. La scarsa produttività degli alveari è legata ad un andamento climatico avverso durante la stagione produttiva 2021 in quella particolare zona d'Italia ed è compatibile con la produttività media registrata in Emilia-Romagna nel 2021 (per maggiori informazioni visita il sito: <https://www.informamiele.it>). L'edibilità del prodotto è stata stabilita sulla base dei parametri obbligatori per normativa, riportati in Figura 3. L'identificazione delle specie polliniche presenti nel miele è stata realizzata mediante analisi pollinica di 2 campioni di miele, uno estratto nel mese di



giugno e uno estratto nel mese di settembre dell'anno in corso. Si riportano di seguito le percentuali dominanti in entrambi i campioni. I granuli pollinici sono stati identificati mediante osservazione con microscopio ottico GIMA 40-1000x.

Figura 3: *Caratteristiche del miele Herambiente 2021.*



Umidità: 16.6

Grado zuccherino: 83

Diastasi: 16,5

HMF: n.p. (<0,01 mg/Kg)

Piombo: < 0,1 mg/Kg (vedi par. Metalli pesanti)

L'analisi melissopalinologica del miele indica la presenza di specie polliniche caratteristiche della macchia mediterranea.

Tra le specie dominanti e di accompagnamento si identificano:

specie polliniche del genere *Rubus*;

specie polliniche appartenenti alla fam. delle *Brassicaceae*;

specie polliniche appartenenti alla fam. delle *Graminaceae*;

specie polliniche appartenenti alla fam. delle *Papaveraceae*;

specie polliniche appartenenti alla fam. delle *Fabaceae* (tra cui spiccano la *Robinia pseudoacacia* e la *Medicago sativa*);

Altri pollini isolati appartengono alla famiglia delle *Umbelliferae* e delle *Plantaginaceae*.



4. Risultati e relative considerazioni.

Per maggiori informazioni sui risultati si rimanda alla consultazione dei referti analitici rilasciati da laboratori accreditati (ACCREDIA) e prodotti con la supervisione della Dott.ssa Tulini.

4.1 Anioni.

Cloruri, solfati e nitrati, sono contaminanti ambientali particolarmente presenti nelle acque per dilavamento del tessuto roccioso delle falde o per contaminazione da reflui urbani (deiezioni umane) e agricolo-zootecnici (deiezioni animali, concimi e fertilizzanti). Gli anioni sono inoltre comuni nella composizione di svariati prodotti, dal settore metalmeccanico (come componente di vernici e smalti) al settore sanitario (prodotti per l'igiene personale e per quella degli ambienti). Possono inoltre derivare dalla contaminazione del particolato atmosferico per movimentazione dei terreni nel corso di opere stradali o edili, nelle attività di ristrutturazione e manutenzione. I cloruri in particolare sono inquinanti idrici, mentre nitrati e solfati sono inquinanti idrici e geologici. Piogge abbondanti possono favorire la penetrazione di queste sostanze nei terreni, quindi nelle specie vegetali e nei bacini idrici più profondi.

Le concentrazioni riscontrate sulle api forniscono informazioni relative ai livelli ambientali di queste sostanze, ovvero alle concentrazioni presenti nell'aria, nell'acqua e nel suolo. Le concentrazioni misurate nel miele rispecchiano invece i livelli di concentrazione nelle matrici vegetali e quindi i possibili livelli di esposizione umana mediante alimentazione. I LMR di queste sostanze sono fissati dalla normativa vigente nelle acque potabili mediante D. Lgs 31/2001 ma non esistono attualmente riferimenti normativi atti a stabilire limiti di concentrazione di queste sostanze nel miele.

Nel 2021 a Sant'Agata, i cloruri misurati su api e miele presentano concentrazioni costanti tra la prima e la seconda fase del progetto e non presentano significative variazioni rispetto alle concentrazioni misurate sulle stesse matrici nell'ambito di medesimi progetti eseguiti per conto di Herambiente. Le

concentrazioni misurate nel miele si presentano in linea con i valori di concentrazioni misurati per i cloruri su diversi campioni di miele italiano (<https://www.ecologiaviterbo.com/apesentinella>). I nitrati presentano invece livelli di concentrazioni più elevati nel miele rispetto alle api, ma costanti tra la prima e la seconda fase del progetto 2021 ed in linea ai valori medi riscontrati nel miele italiano. Considerando le abbondanti piogge che hanno investito il nord-Italia fino alla prima metà dell'estate 2021, possiamo ipotizzare una maggiore penetrazione di queste sostanze nei terreni e quindi, una minore permanenza in atmosfera e sulle superfici vegetali, terrestri e idriche.

Infine i solfati, riconoscono come principali fonti di emissione la produzione e l'uso di prodotti per l'igiene domestica e per la cura personale, nonché di pesticidi per uso agricolo e domestico e di disinfettanti per il trattamento delle lesioni cutanee. Queste sostanze sono presenti in ambienti industrializzati e/o densamente popolati. Le concentrazioni dei solfati sono più elevate nelle api rispetto al miele e nelle api presentano una maggiore variabilità tra la prima e la seconda fase del progetto, in cui appunto tali concentrazioni si riducono. L'ampia escursione che si verifica tra la prima e la seconda fase per i livelli di concentrazione dei solfati nella matrice "api" indica la presenza sul territorio di diverse variabili che partecipano ad alterare i livelli di queste sostanze nell'atmosfera, nonché sulle superfici idriche e vegetali. I solfati nel miele presentano concentrazioni sostanzialmente sovrapponibili tra la prima e la seconda fase.

Tabella 1. Concentrazioni medie degli anioni in matrice api e miele.

LOQ	Unità di misura	FASE 1 (giugno) 2021		FASE 2 (settembre) 2021		Valori medi nel Miele italiano*
		API	MIELE	API	MIELE	
Cloruri	0,01 mg/Kg	505	293	598	249	53-154
Nitrati	0,01 mg/Kg	2,83	17,4	6,1	18,3	237-393
Solfati	0,01 mg/Kg	373	46,4	166	56	21-37

*Per maggiori informazioni contattare la Dott.ssa Tulini (serena.tulini@gmail.com)

4.2 Idrocarburi policiclici aromatici (IPA).

Gli Idrocarburi policiclici aromatici (IPA) sono presenti nell'ambiente sotto forma di miscele complesse contenenti oltre un centinaio di differenti composti, alcuni dei quali altamente pericolosi per il potenziale cancerogeno e teratogeno.

Negli alimenti le concentrazioni di queste sostanze devono rispettare i LMR imposti dalla normativa vigente (Regolamento UE 835/2011) sulla somma di 4 congeneri (benzo(a)pirene, benzo(a)antracene, benzo(b)fluorantene e crisene. Precedentemente il LMR era imposto solo per il benzo(a)pirene, che oggi è noto essere il congenere dominante negli alimenti trasformati, le cui concentrazioni variano in base al processo tecnologico (soprattutto in base ai parametri tempo/temperatura) e quindi non risulta affidabile come marker di inquinamento ambientale.

La IARC (International Agency for Research on Cancer) ha classificato queste sostanze in 4 gruppi, in base agli effetti cancerogeni e teratogeni conclamati, probabili o possibili. Se ci sono sufficienti evidenze di cancerogenicità negli esseri umani la sostanza viene classificata nel gruppo 1; se ci sono limitate evidenze di cancerogenicità negli esseri umani, ma sufficienti evidenze negli animali di laboratorio, la sostanza viene classificata nel gruppo 2A; se ci sono limitate evidenze di cancerogenicità sia negli esseri umani sia negli animali, la sostanza è classificata nel gruppo 2B; se le prove non sono sufficienti, la sostanza è classificata nel gruppo 3; infine se le prove in esseri umani e altri animali indicano un'assenza di attività cancerogena, la sostanza è classificata nel gruppo 4.

Tra i diversi congeneri conosciuti, 24 sono quelli convenzionalmente ricercati come residui pericolosi nelle matrici ambientali e alimentari. Questi sono i congeneri monitorati per il presente progetto di biomonitoraggio ed i risultati sono consultabili attraverso la Tabella 2 e la Tabella 3.

Gli IPA, costituiscono una vasta classe di composti organici la cui caratteristica strutturale è la presenza di due o più anelli benzenici uniti tra loro. In base al numero di anelli benzenici e quindi al peso molecolare, i diversi congeneri di idrocarburi policiclici aromatici si suddividono in 2 gruppi, gli IPA "leggeri" e gli IPA "pesanti", che presentano diverse caratteristiche fisico-chimiche e sono

soggetti a diversi “destini” ambientali, venendo più o meno rapidamente degradati per fotodecomposizione generando chinoni e perossidi. Gli IPA contenenti fino a quattro anelli benzenici in genere rimangono in forma gassosa quando sono immessi nell’atmosfera e entro circa 24 ore iniziano poi a degradarsi attraverso una sequenza di reazioni radicaliche. Gli IPA con quattro o più anelli benzenici non permangono a lungo nell’atmosfera come molecole gassose, tendono rapidamente a condensarsi e ad essere adsorbiti sulla superficie delle particelle di fuliggine e di cenere a causa della loro bassa tensione di vapore, mentre gli IPA “leggeri” aderiscono a tali particelle nel periodo invernale, dato che la loro tensione di vapore si riduce bruscamente con l’abbassarsi della temperatura.

Tabella 2. Profilo tossicologico riscontrato per gli IPA nelle diverse matrici analizzate per questo progetto di biomonitoraggio (FASE 1 – Giugno 2021)

N.	ANELLI	Unità di misura	CONGENERI	API	MIELE	CERA
				FASE 1	FASE 1	FASE 1
4		µg/kg	5-metilcrisene	ND	ND	ND
3		µg/kg	Acenaftene	3,3	ND	4,2
3		µg/kg	Acenaftilene	1,8	ND	5
3		µg/kg	Antracene	ND	ND	3
4		µg/kg	Benzo(a)antracene	0,6	ND	1
5		µg/kg	Benzo(a)pirene	0,7	ND	ND
4		µg/kg	Benzo(j)fluorantene	ND	ND	ND
5		µg/kg	Benzo(e)pirene	1,1	ND	ND
6		µg/kg	Benzo(ghi)perilene	0,8	ND	ND
4		µg/kg	Benzo(k)fluorantene		ND	ND
4		µg/kg	Benzo(b)fluorantene	0,66	ND	ND
5		µg/kg	Ciclopenta(cd)pirene	ND	ND	ND
4		µg/kg	Crisene	1,8	ND	0,8
5		µg/kg	Dibenzo(a,e)pirene	ND	ND	ND
5		µg/kg	Dibenzo(a,h)pirene	ND	ND	ND

N.	ANELLI	Unità di misura	CONGENERI	API	MIELE	CERA
AROMATICI				FASE 1	FASE 1	FASE 1
6		µg/kg	Dibenzo(ah+ai)pirene	ND	ND	ND
6		µg/kg	Dibenzo(a,l)pirene	ND	ND	ND
3		µg/kg	Fenantrene	6,7	0,6	21,8
4		µg/kg	Fluorantene	4,8	ND	5,8
3		µg/kg	Fluorene	6,3	ND	29,2
5		µg/kg	Indeno(1,2,3,cd)pirene	0,7	ND	ND
2		µg/kg	Naftalene	ND	ND	ND
4		µg/kg	Perilene	ND	ND	ND
4		µg/kg	Pirene	6,5	0,4	6,7

Come evidenziato da altri studi riguardanti le fonti di emissione e i livelli ambientali di queste sostanze tossiche, il numero di congeneri quantificabili e i relativi valori di concentrazione, si presentano più alti in corrispondenza di periodi temporali più miti e si riducono drasticamente in corrispondenza di periodi più caldi dell'anno. Nella seconda fase infatti (settembre 2021), il numero di congeneri quantificabili e le relative concentrazioni misurate, sono inferiori rispetto alla prima fase di campionamento e analisi realizzata a giugno 2021. Tra le matrici apistiche sottoposte alla ricerca e alla quantificazione degli IPA, la cera, che rappresenta il tessuto lipidico dell'alveare, presenta il maggior numero di congeneri quantificabili e più elevati valori di concentrazione. Tale dato non stupisce dal momento che la cera, per la sua natura lipidica, trattiene nel tempo gli inquinanti soprattutto quelli lipofili e persistenti, costituendo la matrice d'elezione per lo studio di eventuali fenomeni di accumulo. Un minor numero di congeneri e con valori di concentrazione più bassi si riscontrano nella cera campionata e analizzata nella prima metà di settembre. Tra questi, persistono in particolare i congeneri con un numero di anelli benzenici uguale o superiore a 4. Nel miele invece i congeneri quantificabili sono pochi e presentano basse concentrazioni. Come osservato nel corso di altre indagini eco-tossicologiche realizzate con l'ausilio delle api (vedi bibliografia e altri progetti

del circuito “*Capiamo*”), nei periodi con temperature più elevate il miele campionato e analizzato non presenta congeneri identificabili per questa categoria tossicologica. Fenantrene e pirene sono gli unici congeneri identificati nel miele campionato a Sant’Agata nella prima fase del progetto. Questi congeneri sono legati al traffico automobilistico, non particolarmente intenso in questa zona della provincia bolognese, particolarmente ricca di aree dedicate alle produzioni agricole ma molto vicina ad un’importante strada provinciale che è la via persicetana. Il rapporto tra i congeneri identificati su matrice api e il rapporto tra le rispettive concentrazioni evidenziano la partecipazione di più fonti di emissione, tra le quali predominano il traffico automobilistico e le attività che prevedono la pirolisi di biomasse o carburanti fossili (es. riscaldamento domestico).

Tabella 3. Profilo tossicologico riscontrato per gli IPA nelle diverse matrici analizzate per questo progetto di biomonitoraggio (FASE 2 – Settembre 2021)

N.	ANELLI	Unità di misura	CONGENERI	API FASE 2	MIELE FASE 2	CERA FASE 2
4		µg/kg	5-metilcrisene	ND	ND	ND
3		µg/kg	Acenaftene	ND	ND	ND
3		µg/kg	Acenaftilene	ND	ND	ND
3		µg/kg	Antracene	ND	ND	0,4
4		µg/kg	Benzo(a)antracene	ND	ND	ND
5		µg/kg	Benzo(a)pirene	ND	ND	ND
4		µg/kg	Benzo(j)fluorantene	ND	ND	ND
5		µg/kg	Benzo(e)pirene	ND	ND	0,5
6		µg/kg	Benzo(ghi)perilene	ND	ND	0,4
4		µg/kg	Benzo(k)fluorantene	ND	ND	ND
4		µg/kg	Benzo(b)fluorantene	ND	ND	ND
5		µg/kg	Ciclopenta(cd)pirene	ND	ND	ND
4		µg/kg	Crisene	ND	ND	ND
5		µg/kg	Dibenzo(a,e)pirene	ND	ND	ND

N.	ANELLI	Unità di misura	CONGENERI	API	MIELE	CERA
AROMATICI				FASE 2	FASE 2	FASE 2
5		µg/kg	Dibenzo(a,h)pirene	ND	ND	ND
6		µg/kg	Dibenzo(ah+ai)pirene	ND	ND	ND
6		µg/kg	Dibenzo(a,l)pirene	ND	ND	ND
3		µg/kg	Fenantrene	ND	ND	ND
4		µg/kg	Fluorantene	ND	ND	ND
3		µg/kg	Fluorene	4,2	ND	ND
5		µg/kg	Indeno(1,2,3,cd)pirene	ND	ND	ND
2		µg/kg	Naftalene	ND	ND	ND
4		µg/kg	Perilene	ND	ND	ND
4		µg/kg	Pirene	ND	ND	ND

La somma dei congeneri benzo (a) pirene, benzo (a) antracene, benzo (b) fluorantene e crisene, su tutte le matrici risulta conforme ai limiti stabiliti dalla normativa vigente per i prodotti alimentari (Regolamento UE 1881/2006 e successive revisioni). Per una migliore comprensione dei rapporti di concentrazione tra congeneri pirogenici e petrogenici, potrebbe essere utile considerare la propoli come prossima matrice analitica. Come dimostrato da altri studi infatti, olii e resine vegetali utilizzati come carburanti fossili possono essere usati dalle api per la produzione di propoli.

4.4 Metalli pesanti.

I metalli si definiscono contaminanti ambientali in quanto fanno parte della normale composizione della geosfera, ma vengono emessi in continuazione dalle varie fonti antropiche generando livelli ambientali superiori a quelli normalmente presenti e, difficili da “metabolizzare” per l’ambiente .

Tabella 4. Profilo quali-quantitativo dei metalli pesanti in api e miele.

Fase 1 (2021)	Fase 2 (2021)
---------------	---------------

	LOQ	Unità di misura	API	MIELE	API	MIELE
Alluminio	0,05	mg/Kg	4	0,58	10	2,7
Antimonio	0,05	mg/Kg	ND	ND	ND	ND
Arsenico	0,01	mg/Kg	0,02	ND	0,01	ND
Berillio	0,2	mg/Kg	ND	ND	ND	ND
Cadmio	0,01	mg/Kg	0,054	ND	0,02	ND
Cromo	0,005	mg/Kg	0,024	0,01	0,08	0,016
Ferro	0,06	mg/Kg	79,6	22,5	52,3	3,4
Manganese	0,05	mg/Kg	34,9	0,27	8,5	0,45
Mercurio	0,005	mg/Kg	ND	ND	ND	ND
Nichel	0,01	mg/Kg	ND	ND	0,19	0,04
Piombo	0,02	mg/Kg	0,081	ND	0,11	ND
Rame	0,05	mg/Kg	7,05	0,44	9,9	0,35
Selenio	0,01	mg/Kg	0,11	ND	0,18	ND
Stagno	0,05	mg/Kg	0,02	0,03	0,05	0,022
Vanadio	0,7	mg/Kg	ND	ND	ND	ND
Zinco	0,7	mg/Kg	32	1,7	42	1,8

Ferro, manganese, zinco, alluminio e rame sono i metalli pesanti con le concentrazioni più alte riscontrate nel corso di questa indagine eco-tossicologica. Ferro, manganese e alluminio sono le principali componenti delle leghe metalliche usate per l'edilizia. Zinco e rame sono invece abbondanti nei pesticidi utilizzati in ambito agricolo e domestico. Tuttavia, il confronto di questi dati con quelli ottenuti attraverso altri studi (vedi bibliografia) ci permette di affermare che l'area descritta da 7 Km di raggio intorno allo stabilimento Herambiente in via Romita 1, presso Sant'Agata Bolognese, risulta poco inquinata. Il pattern descritto dalle concentrazioni dei singoli principi attivi suggerisce una prevalente naturale origine geologica della contaminazione del miele da parte dei metalli pesanti. Tuttavia, traffico automobilistico e ferroviario partecipano a definire il quadro complessivo di inquinamento e contaminazione ambientale di origine antropica che incide sulla qualità del miele che comunque si presenta conforme ai parametri stabiliti dalla normativa vigente. Il Regolamento (CE) 1881/2006 e successive modifiche, per quanto riguarda il miele stabilisce LMR solo per il piombo tra

i metalli pesanti. Tale valore massimo risulta superiore ai valori riscontrati nel miele di Herambiente. Nel miele analizzato nel corso di questo progetto, anche il cadmio, che viene monitorato nel miele italiano nell'ambito del *Piano Nazionale Residui* (PNR) organizzato annualmente nel rispetto della Direttiva 96/23/CE, mostra valori inferiori ai LMR stabiliti dal Regolamento (CE) 1881/2006 e successive modifiche. Pertanto, il miele prodotto presso l'impianto di compostaggio con produzione di biometano di Herambiente risulta atto al consumo.

4.5 Pesticidi.

Sostanze chimiche di origine naturale o sintetica impiegate in campo agricolo e domestico per limitare l'azione nociva di organismi animali e vegetali sulle coltivazioni per le produzioni alimentari o sulle piante ornamentali (insetticidi, acaricidi, fungicidi ed erbicidi). Sono utilizzati in campo agricolo anche per favorire la crescita delle piante e lo sviluppo dei beni derivati (frutti, fiori, ecc.). Si impiegano anche in ambito zootecnico per la protezione degli animali da reddito (insetticidi, acaricidi e fungicidi, rodenticidi). Esistono varie modalità di applicazione, che prevedono la dispersione di queste sostanze nell'aria (vaporizzazioni) nel suolo (addizione alle sementi) e nelle acque (sospensione). Nella matrice api e nel miele, non sono state misurate concentrazioni superiori al LOQ (limite di quantificazione) per nessuna tra le molecole ricercate. Nella cera analizzata per la prima fase (costruita dalle api senza supporto del foglio cereo) si evidenziano piccole concentrazioni di fluvalinate, coumaphos, clorfenvinphos, cimiazolo e acrinatrina. Ad eccezione dell'acrinatrina, piretroide di terza generazione, le altre sostanze riscontrate sono state utilizzate in passato in apicoltura e/o in agricoltura biologica e sono pertanto sottoposte a LMR per la certificazione della cera biologica attraverso il Regolamento Tecnico 16 di Accredia.

Coumaphos, clorfenvinphos e tau-fluvalinate, sono le molecole più frequentemente identificate nel corso di indagini relative alla qualità della cera d'api in Italia (vedi bibliografia).. Sebbene il tau-



Serena Maria Rita Tulini
Medico veterinario
Via Antica Cattedrale n.30, 64100 Teramo, Italy.
Tel. +39 0861266988
Cell. +39 3286675435
P.iva 02005850678

fluvalinate sia attualmente autorizzato in Italia per la lotta contro la *Varroa*, non è stato applicato mai sugli alveari coinvolti in questa indagine eco-tossicologica. Il riscontro di questo principio attivo nella cera può essere stato determinato dall'interazione con altri alveari presenti sul territorio e trattati con questo particolare antiparassitario. Il cimiazolo è attualmente in vendita come prodotto veterinario per l'apicoltura ed è soggetto a prescrizione medica, mentre l'acrinatrina è un piretroide di terza generazione usato in agricoltura soprattutto su vite e fruttiferi.

Nella seconda fase del progetto, la cera sottoposta ad analisi per la ricerca di pesticidi non ha mostrato valori positivi per nessuno dei principi attivi ricercati.

5. Conclusioni.

Nel presente elaborato sono presentati i risultati del progetto di biomonitoraggio "Capiamo" attivato da Herambiente, nel 2021, presso l'impianto di compostaggio con produzione di biometano di S.Agata Bolognese (BO). Presso la stazione di biomonitoraggio, installata in impianto nella primavera 2021, sono stati eseguite due campagne di campionamento e analisi su api, miele e cera. I risultati analitici evidenziano livelli di concentrazione degli IPA nella cera, inferiori ai LMR imposti dalla normativa vigente per olii e grassi di origine animale (10 µg/Kg). Nonostante la localizzazione dell'area monitorata, posta ad una distanza inferiore a 30 Km rispetto al centro della Città Metropolitana di Bologna, l'impatto antropico derivante dalle attività industriali risulta meno significativo rispetto ad altre zone, significativamente distanti o limitrofe. Il rapporto tra le concentrazioni dei singoli principi attivi tra i metalli pesanti e gli IPA misurati nelle matrici apistiche campionate in Sant'Agata Bolognese, suggeriscono come principali fonti di inquinamento nell'area monitorata: il traffico automobilistico e ferroviario, nonché l'uso di concimi e fertilizzanti in agricoltura. Le concentrazioni misurate per la categoria "anioni" sono in linea con le concentrazioni medie riscontrate nel miele italiano e sono tipiche di un'area non densamente popolata, priva di poli industriali consistenti, caratterizzata dalla presenza di un settore agricolo forte e produttivo. Il miele

prodotto presso l'impianto di compostaggio con produzione di biometano si mostra esente da inquinanti pericolosi per la salute umana ed ha un profilo pollinico caratteristico del basso appennino emiliano. Il miele si presenta infatti ambrato e fluido, con una cristallizzazione fine ed uniforme e con un dolce aroma di frutti di bosco, determinato dall'abbondanza di pollini del *genere Rubus*. Tra i pollini di piante leguminose risultano particolarmente abbondanti quelli appartenenti al *gen. Medicago*, ampiamente coltivata nelle aree circostanti. In base alla Direttiva CE 96/23/CE, concernente le misure di controllo su talune sostanze e sui loro residui negli animali vivi e nei loro prodotti, il miele deve risultare esente da residui di sostanze farmacologicamente attive (antibiotici e pesticidi) e altri inquinanti (metalli pesanti e sostanze clorate). Pertanto, nell'ambito dell'annuale *Piano Nazionale Residui*, il miele italiano è analizzato per la ricerca e la quantificazione di tutte le sostanze di *categoria B* incluse dalla suddetta normativa europea. Il miele analizzato per questo progetto di monitoraggio ambientale non contiene sostanze farmacologicamente attive (antibiotici e pesticidi) e neppure altre sostanze (piombo e cadmio tra i metalli pesanti analizzati per questo progetto), rispettando pertanto i limiti massimi residuali stabiliti dalla normativa vigente (Regolamento CE 1881/2006, Direttiva 96/23/CE).

SERENA M.R. TULINI
Medico Veterinario e Dottore
di Ricerca in Scienze degli Alimenti
Albo Professionale Matr. 517
P.IVA 02005850678
Cell. 328/6675435



6. Riferimenti Bibliografici e Normativi.

- 1) APAT, Agenzia per la protezione dell'ambiente e per i servizi tecnici. Annuario dei dati ambientali 2005/2006. ISBN88-448-0182-5.
- 2) Christina M. Burden, Mira O. Morgan, Kristen R. Hladun, Gro V. Amdam, John J. Trumble & Brian H. Smith (2019) Acute sublethal exposure to toxic heavy metals alters honey bee (*Apis mellifera*) feeding behavior. Scientific reports, 9:4253.
- 3) COMMISSION REGULATION (EC) No 1881/2006 of 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs
- 4) COMMISSION REGULATION (EU) No 835/2011 of 19 August 2011 amending regulation (EC) No 1881/2006 as regards maximum levels for polycyclic aromatic hydrocarbons in foodstuffs.
- 5) Costa, A., Veca, M., Barberis, M., Tosti, A., Notaro, G., Nava, S., Lazzari, M., Agazzi, A. & Tangorra F.M. (2019) Heavy metals on honeybees indicate their concentration in the atmosphere. a proof of concept, Italian Journal of Animal Science, 18:1, 309-315.
- 6) DECRETO 4 dicembre 2009: Disposizioni per l'anagrafe apistica nazionale (Gazzetta Ufficiale n. 93 del 22 aprile 2010).
- 7) Decreto Legislativo 2 Febbraio 2001 n.31: Attuazione della Direttiva 98/83/CE relativa alla qualità delle acque destinate al consumo umano (GU L. 52)
- 8) E. Goretti, M. Pallottini, R. Rossi, G. La Porta, T. Gardi, B.T. Cenci Goga, A.C. Elia, M. Galletti, B. Moroni, C. Petroselli, R. Selvaggi, D. Cappelletti. 2020. Heavy metal bioaccumulation in honey bee matrix, an indicator to assess the contamination level in terrestrial environments. Environmental pollution. 256:113388.
- 9) Environmental agency: Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs): sources, pathways and environmental data October 2019.
- 10) Lambert et al., 2012. Polycyclic aromatic hydrocarbons: bees, honey and pollen as sentinels for environmental chemical contaminants
- 11) Lawal A.T., 2017. Polycyclic aromatic hydrocarbons. A review.
- 12) Legge n. 313 del 24 Dicembre 2004 recante «Disciplina per l'apicoltura».
- 13) M J del Nozal, J L Bernal, J C Diego, L A Gómez, J M Ruiz, M Higes. 2000. Determination of oxalate, sulfate and nitrate in honey and honeydew by ion-chromatography. J Chromatogr A. 881(1-2):629-38.
- 14) Miriam Gutiérrez, Rafael Molero & Miquel Gaju, Josef van der Steen, Claudio Porrini, José Antonio Ruiz. 2015. Assessment of heavy metal pollution in Córdoba (Spain) by biomonitoring foraging honeybee. Environmental monitoring assessment. 187:651
- 15) Navid Kargar et al., 2017. Biomonitoring status and source risk assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons using honeybees, pine tree and propolis.
- 16) Perugini, M., Di Serafino, G., Giacomelli, A., Sabatini, A.G., Persano Oddo, L., Marinelli, E., Amorena, M. 2009. Monitoring of polycyclic aromatic hydrocarbons in bees (*Apis mellifera*) and honey in urban areas and wildlife reserve. J.Agric.Food Chem. 57(16):7440-4.
- 17) Perugini, M., Tulini, S.M.R., Zezza, D., Fenucci, S., Conte, A., Amorena, M. 2018. Occurrence of agrochemical residues in beeswax samples collected in Italy during 2013-2015. Sci. Total Environ. 625, 470-476.

- 18) Regolamento Tecnico n.16 (Accredia) rev. 05 del 2017, “Prescrizioni per l’accreditamento degli organismi che rilasciano dichiarazioni di conformità di processi e prodotti agricoli e derrate alimentari biologici, ai sensi del Regolamento UE 834/2007 e sue successive integrazioni e modifiche.
- 19) Regolamento UE 37/2010 della Commissione del 22 Dicembre 2009 concernente le sostanze farmacologicamente attive e la loro classificazione per quanto riguarda i limiti massimi di residui negli alimenti di origine animale.
- 20) Regolamento UE n. 1881/2006 della Commissione del 19/12/2006, che definisce i tenori massimi di alcuni contaminanti nei prodotti alimentari (GU L. 364) e successive modifiche e revisioni (Reg UE 629/2008; Reg UE 574/2011; Reg UE 420/2011; Reg UE 744/2012).
- 21) Regolamento UE n. 396/2005 del Consiglio del 23/02/2005, concernente i tenori massimi di residui di antiparassitari nei o sui prodotti alimentari e mangimi di origine vegetale e animale.
- 22) Stefan Bogdanov, 2006. Contaminants in bee products. Apidologie. 37:1.
- 23) Stöcker, G., 1980. In Schubert, R., Schuh, J. (Eds): Methodische and Theoretische Grundlagen der Bioindikation (Bioindikation 1). Martin-Luther-Universität; Halle (Saale), GDR, pp. 10-21



Serena Maria Rita Tulini
Medico veterinario

Via Antica Cattedrale n.30, 64100 Teramo, Italy.
Tel. +39 0861266988
Cell. +39 3286675435
P.iva 02005850678