



RADIOCONTAMINAZIONE

# Screening su campioni di latte di massa nella Provincia di Cuneo

EMILIANA BALLOCCHI<sup>1</sup>, GANDOLFO BARBARINO<sup>2</sup>, ROSELLA BOCCA<sup>3</sup>, PIETRO CAZZOLA<sup>1</sup>, LORENZO CESANO<sup>3</sup><sup>1</sup> Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, Sezione di Vercelli<sup>2</sup> Regione Piemonte, Servizi Veterinari<sup>3</sup> Servizio Veterinario ASL CN 1

**L**e vie di ingresso di radionuclidi nella catena alimentare passano sostanzialmente attraverso i vegetali, consumati direttamente o utilizzati nell'alimentazione animale; nel passaggio di uno e, talvolta, due anelli di detta catena può avvenire sia una diminuzione per diluizione sia un aumento della biodisponibilità e del valore biologico dei radioisotopi poiché, trattandosi di metalli chimicamente del tutto simili agli isotopi stabili, ciascuno di essi, nei vegetali, può essere legato a svariate molecole con destino metabolico diverso e, quindi, con diversa capacità di assunzione e compartimentazione da parte degli organismi coinvolti [1, 8].

Anche a causa di processi tecnologici e agro-alimentari, come la caseificazione e la concimazione naturale, ci può essere una variazione della loro pericolosità poiché la prima ne consente, a seconda del tipo di lavorazione, tanto la concentrazione che la diluizione nel formaggio prodotto, mentre la seconda ne promuove il riciclo ambientale, "concime - terreno - vegetali - erbivori - concime", con possibilità anche di concentrazione se è presente un apporto esterno di elementi radioattivi [9].

Al fine di poter controllare la dinamica di questi fenomeni, in un precedente lavoro (*Argomenti* 1/2011) [7], è stata proposta una metodica di *screening* in scintillazione liquida che, nonostante non consenta l'individuazione specifica dei radioisotopi interessati e necessiti di un'ulteriore conferma spettrometrica, ha dimostrato, in una preliminare sperimentazione su latte di alpeggio, la capacità di evidenziare la presenza di radioattività di origine antropica eccedente quella di fondo, normalmente presente, con tempi di analisi contenuti e tali da consentire l'esame di un numero di campioni sufficiente per un controllo efficiente del territorio. Sulla base di quanto emerso nel lavoro avanti richiamato si è evidenziata la necessità di verificare il metodo con un numero di campioni maggiore. In considerazione del fatto che la più

alta concentrazione di allevamenti di bovini da latte è in provincia di Cuneo, si è concordato con la Direzione di Sanità pubblica, Settore Prevenzione veterinaria della Regione Piemonte di monitorare il territorio di questa Provincia.

Il presente lavoro propone uno studio numericamente più ampio (327 campioni), prelevati in un'area vasta, comprendenti anche alcuni campioni ovini o misti, al fine di valutare l'applicabilità del metodo anche su questi, di prevalente pianura e soggetti a controlli sistematici per motivi sanitari; inoltre si pone l'obiettivo di valutare oltre alla reale sicurezza del metodo nel discriminare la presenza di contaminazioni importanti di questo alimento, la possibilità che questa matrice possa servire da marker dell'arrivo di radioattività di origine antropica nel territorio e quindi consentire, con un'ulteriore indagine, l'individuazione dell'origine e delle vie d'accesso.

## Sistema di sorveglianza italiano e normativa di riferimento

A livello nazionale, il D.lgs n. 230 del 1995 (attuazione delle direttive EURATOM -The European Atomic Energy Community - 80/836, 84/467, 89/618, 90/641 e 92/3), modificato dal D.lgs n. 241 del 2000 (attuazione della direttiva CE 96/29) è la normativa di riferimento in materia di radiazioni ionizzanti.

Ai sensi dell'art. 104 del D.lgs 230/95 è stata istituita una rete regionale di sorveglianza della radioattività ambientale, che segue le direttive impartite dal Ministero della Salute dell'Ambiente che costituisce un importante strumento per il controllo sia della radioattività nell'ambiente sia dei radionuclidi eventualmente presenti negli alimenti e bevande destinate all'uomo e agli animali [5].

Il campionamento degli alimenti viene effettuato dalle ASL tramite i Servizi veterinari e Servizi di Igiene degli Alimenti

**Tabella 1. Distribuzione, in classi da 2,5 CPS/I, dei valori di radioattività rilevata in LSC su tutti i campioni testati.**

Classi CPS/I	N. Campioni
< 47,5	17
47,5-50	35
50-52,5	81
52,5-55	93
55-57,5	63
> 57,5	38
Totale	327

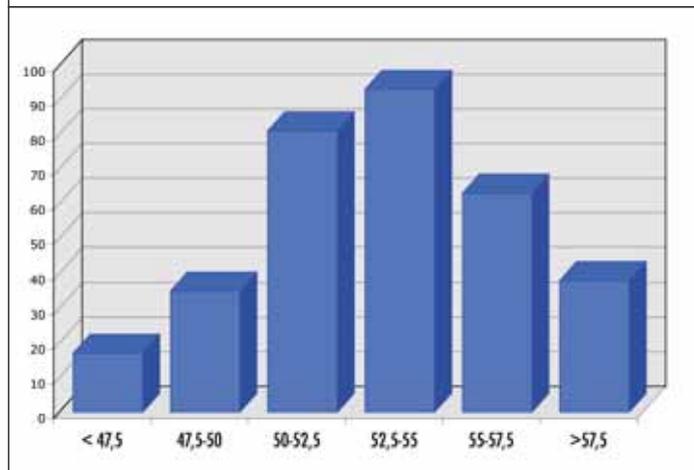


Figura 1. Grafico correlato alla tabella 1.

e Nutrizione e i campioni sono inviati ai laboratori competenti.

Annualmente il piano di campionamento viene stilato dall'ARPA Piemonte secondo indicazioni provenienti dall'Istituto Superiore per la Protezione e la Ricerca Ambientale (ISPRA) e sulla base della dieta media della popolazione [6]. In questo modo si cerca di rendere il campionamento rappresentativo ai fini del calcolo della dose efficace media attribuibile alla popolazione stessa; ai sensi del D.lgs 230/95 tale limite è fissato a 1mSv/anno e riguarda la sola radioattività d'origine artificiale, escludendo le esposizioni mediche.

Il latte, assieme ai suoi derivati (formaggi, yogurt) è la matrice alimentare che viene costantemente monitorata in tutte le Regioni italiane, sia perché è uno degli alimenti quasi sempre presenti nella dieta di ogni individuo e ancor di più per i bambini, sia perché in esso passano radionuclidi artificiali, eventualmente presenti nei mangimi somministrati agli animali. Il monitoraggio della sua qualità, anche per quanto riguarda l'analisi dei radionuclidi eventualmente in esso presenti e soprattutto se gli animali sono alimentati con mangimi d'origine locale, permette un controllo dei livelli generali di contaminazione radioattiva dell'ambiente, e per questo viene considerato come alimento di riferimento per la radioprotezione e la radioecologia [1, 4, 6, 9].

Per quanto riguarda gli alimenti il Consiglio delle Comu-

nità europee ha emanato diversi regolamenti che fissano i livelli massimi ammissibili di contaminazione radioattiva per i prodotti alimentari e per gli alimenti per gli animali, che possono essere immessi sul mercato a seguito di un incidente nucleare o in qualsiasi altro caso di emergenza radioattiva, ai fini della protezione della popolazione. Per gli alimenti sono da ricordare i Regolamenti 2218/89 e 944/89 e, per gli alimenti per animali pronti al consumo, il Regolamento 770/90 (riquadro 1).

## Materiali e metodi

### Reagenti

- *Cocktail* di scintillazione "Insta-Gel" della ditta PerkinElmer.
- Serie di *Standard* non quenziati della ditta PerkinElmer per la calibrazione automatica del contatore a scintillazione liquida.
- Soluzione *standard* di calibrazione QCYB41 certificata della ditta Isotrak - AEA Technology QSA.

### Apparecchiature

- Contatore a scintillazione liquida "Packard Tri-Carb 2500".
- Spettrometro gamma Ortec 905-4 con *detector* NaI da 3 x 3 pollici.

**Tabella 2. Distribuzione, in classi da 2,5 CPS/I dei valori di radioattività rilevata in LSC sui campioni di aziende di fondovalle.**

Classi CPS/I	N. Campioni
< 47,5	10
47,5-50	33
50-52,5	76
52,5-55	90
55-57,5	53
> 57,5	18
Totale	280

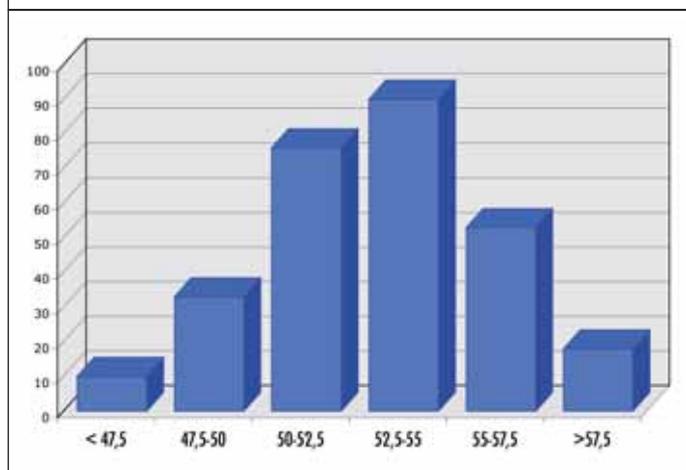


Figura 2. Grafico correlato alla tabella 2.

**Tabella 3. Distribuzione, in classi da 2,5 CPS/I, dei valori di radioattività rilevata in LSC sui campioni di aziende a quote altimetriche superiori.**

Classi CPS/I	N. campioni
< 47,5	7
47,5-50	2
50-52,5	5
52,5-55	3
55-57,5	10
> 57,5	20
Totale	47

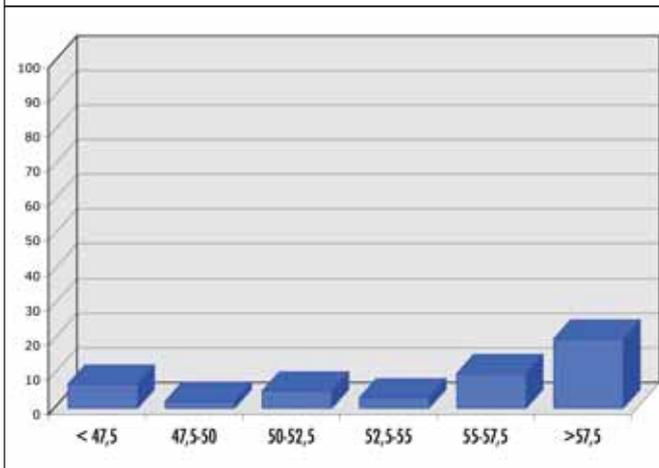


Figura 3. Grafico correlato alla tabella 3.

### Campioni

Sono stati prelevati 327 campioni di latte di massa di cui 280, provenienti da allevamenti bovini situati in aree di fondovalle mentre, vista la tendenza dei risultati, gli ultimi 47, comprendenti anche alcuni di ovino o misti, sono stati prelevati in stalle situate a quote altimetriche più elevate; questi ultimi, considerati insieme agli altri nella valutazione complessiva, sono stati utilizzati per valutare la differenza di andamento della radioattività basale in relazione all'altitudine degli allevamenti nonché l'applicabilità del metodo al latte ovino.

Per ottimizzare l'uso delle risorse i campioni da esaminare, contrassegnati da numero progressivo da 1 a 327, sono stati prelevati nell'ambito dell'esecuzione dei piani di profilassi (brucellosi - leucosi) e del controllo ufficiale di verifica della qualità igienico sanitaria del latte presso gli allevamenti di produzione.

### Caratteristiche degli allevamenti e dati aziendali

Le aziende controllate sono state 326 di cui 250 site in pianura e 76 su territori pedemontani o montani (sono compresi gli allevamenti ovis).

Dati aziendali rilevati:

- tipologia allevamento: tabulazione permanente, pascolo, alpeggio;
- alimentazione (materie prime): prodotte in azienda, acquistate esterne;

### Riquadro 1. Normativa di riferimento in materia di radiazioni ionizzanti.

• **Regolamento (EURATOM) n. 2218/89** del Consiglio del 18 luglio 1989 recante modifica del Regolamento (EURATOM) n. 3954/87 che fissa i livelli massimi ammissibili di radioattività per i prodotti alimentari e per gli alimenti per animali in caso di livelli anormali di radioattività a seguito di un incidente nucleare o in qualsiasi altro caso di emergenza radioattiva.

*Gazzetta ufficiale n. L211 del 22/07/1989 pagg. 0001 - 0003.*

• **Regolamento (EURATOM) n. 944/89** della Commissione del 12 aprile 1989 che fissa i livelli massimi ammissibili di contaminazione radioattiva per i prodotti alimentari secondari a seguito di un incidente nucleare o di qualsiasi altro caso di emergenza radioattiva.

*Gazzetta ufficiale n. L101 del 13/04/1989 pagg. 0017 - 0018.*

• **Regolamento (EURATOM) n. 770/90** della Commissione, del 29 marzo 1990, che fissa i livelli massimi di radioattività ammessi negli alimenti per animali contaminati a seguito di incidenti nucleari o di altri casi di emergenza da radiazione.

*Gazzetta ufficiale n. L083 del 30/03/1990 pagg. 0078 - 0079.*

• **Decreto Legislativo del Governo 17 marzo 1995 n. 230** "Attuazione delle direttive 89/618/EURATOM, 90/641/EURATOM, 92/3/EURATOM e 96/29/EURATOM in materia di radiazioni ionizzanti."

Modificato da:

D.Lgs. 26 maggio 2000, n. 187

D.Lgs. 26 maggio 2000, n. 241

D.Lgs. 9 maggio 2001, n. 257

D.Lgs. 26 marzo 2001, n. 151

Legge 1 marzo 2002, n. 39.

- approvvigionamento idrico: potabile, pozzo;
- concimazione (provenienza concime): aziendale, esterna.

### Tecnica di *screening* in LSC con conferma spettrometrica dei campioni anomali

La scelta del metodo di lettura per scintillazione liquida è stata dettata dal fatto che, con questa tecnica, i radioisotopi gamma emittenti, come il  $^{137}\text{Cs}$ , vengono letti con un'efficienza molto alta mentre lo  $^{90}\text{Sr}$  e l' $^{90}\text{Y}$  in equilibrio, oltre eventuali altri beta emittenti ad alta energia, producono una radiazione "Cerenkov" che consente letture particolarmente sensibili [2, 3, 8]; con il protocollo analitico proposto, il sistema è quindi in grado di evidenziare anomalie di radioattività di base pur non potendo discriminare tra loro emissioni alfa, beta, gamma e X né i radioisotopi che le producono.

I campioni in cui si sono rilevate anomalie, ovvero radioattività che si discosta dai valori normali individuati in pre-

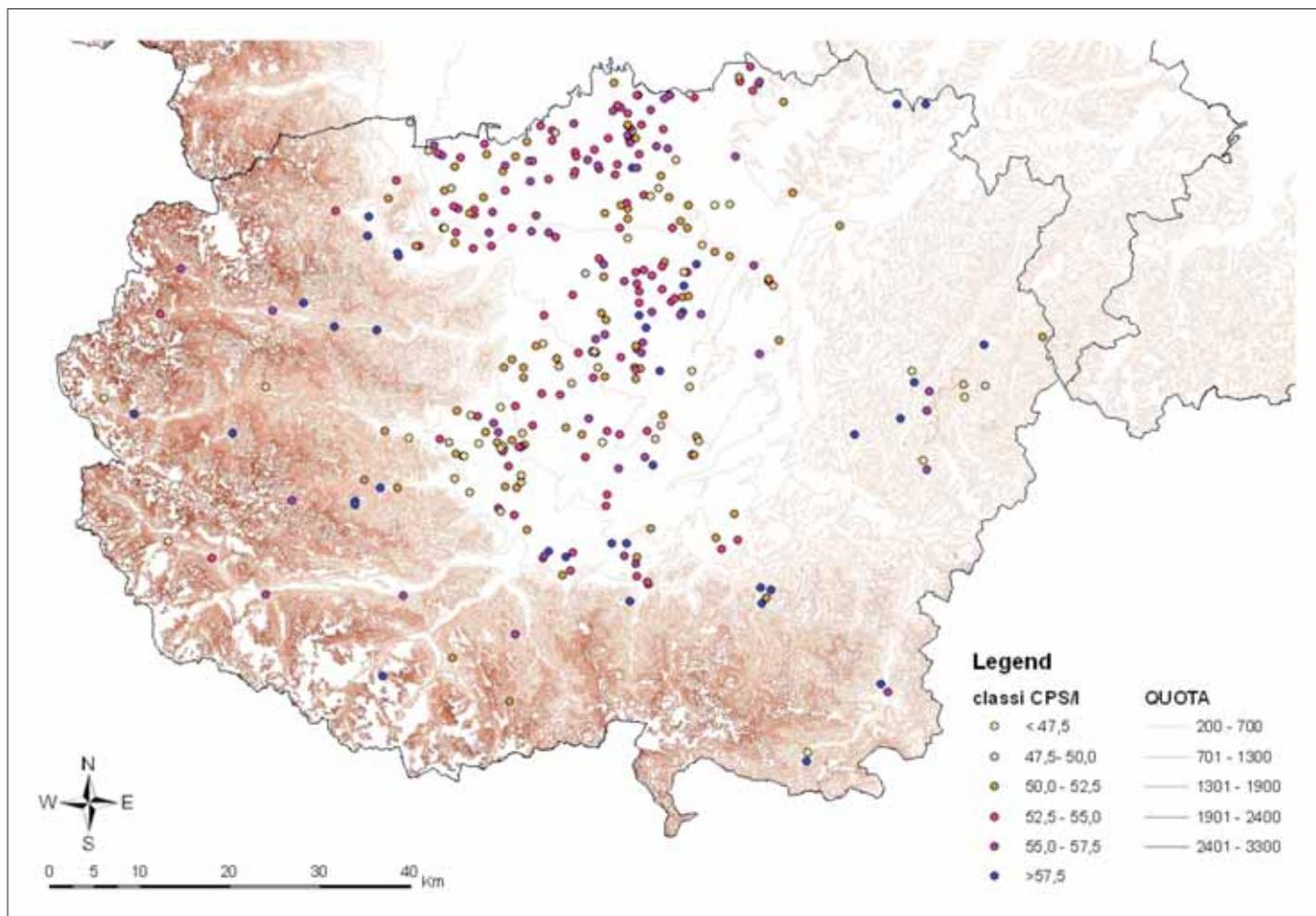


Figura 4. Distribuzione territoriale della radioattività.

cedenza in quel territorio o semplicemente più elevati di quelli dello stesso lotto di prelievi, sono stati sottoposti a spettrometria gamma per la ricerca del Cesio 137, isotopo la cui presenza è rivelatrice di contaminazione antropica. Per tale motivo i campioni analizzati in LSC, suddivisi in classi di 2,5 CPS/l, vengono testati in spettrometria partendo dai più alti in modo da identificare quale classe rappresenta il limite inferiore delle positività al  $^{137}\text{Cs}$ , cioè identifica il *cut-off* di separazione tra campioni contaminati e non che deve essere posto al di sotto di una zona di sicurezza che garantisca da campioni dubbi.

#### Metodo di lettura in LSC

I campioni sono stati preparati in *vials* di polietilene agitando 10 ml di cocktail di scintillazione Insta-Gel con 10 ml di latte fino alla formazione di gel e letti con sottrazione di un bianco formato da 10 ml di  $\text{H}_2\text{O}$  ultrapura.

Le determinazioni sono state effettuate con contatore per scintillazione liquida "Packard Tri-Carb 2500", calibrato con il programma di calibrazione automatico utilizzando la serie di standard non "quencati" della ditta Perkin Elmer

e programmato come segue:

- tempo di lettura di 100 minuti o 2 Sigma = 2,5%;
- regione di lettura da 15 a 2000 keV;
- correzione dei fenomeni di luminescenza;
- monitoraggio dell'eterogeneità del campione;
- correzione dei campioni colorati;
- *High Sensitivity Count Mode*;
- controllo delle cariche elettrostatiche;
- sottrazione del bianco posto nella prima posizione.

#### Metodo di lettura in Spettrometria Gamma con detector a NaI

Sono state standardizzate letture di 200 ml di latte in contenitori di plastica effettuando, previamente, la calibrazione strumentale, tanto per le energie quanto per l'efficienza, con la Soluzione Standard certificata QCYB41; i campioni sono stati contati per almeno 8 ore e la quantizzazione è stata limitata al  $^{137}\text{Cs}$ .

#### Risultati

La distribuzione dei valori rilevati in LSC, normalizzati per

il bianco rilevato nei diversi gruppi e suddivisi in classi di 2,5 CPS/l, è stata riportata nella tabella 1 mentre il loro andamento è illustrato nella figura 1 correlata. Nella tabella 2 e nella relativa figura 2 è riportata la distribuzione dei primi 280 campioni (riguardanti aziende di fondovalle o collinari) mentre nella tabella 3 e figura 3 derivata viene evidenziata quella dei 47 campioni, frammisti anche a latte ovino, scelti per la posizione degli allevamenti situati a quote altimetriche maggiori. Dei primi 280 campioni, quelli della classe più elevata (superiori a 57 CPS/l, ritenuto il limite di separazione sicuro tra latte contaminato e non), oltre ad alcuni delle classi inferiori che avevano suscitato dubbi, sono stati testati in spettrometria gamma. Degli ultimi 47 campioni, in cui si è evidenziato un netto innalzamento del livello di attività basale (come si evince dallo spostamento della cuspide della curva dalla classe 52,5–55 a > 57,5 evidenziato nella figura 3 correlata alla tabella 3) s'è proceduto alla conferma dell'assenza del Cesio solo nei campioni più elevati poiché si è ritenuto il *cut-off* di separazione tra campioni contaminati e indenni più elevato di 57,5.

Come si può chiaramente osservare, tutti i campioni sottoposti a spettrometria gamma con rivelatore a NaI hanno evidenziato concentrazioni di  $^{137}\text{Cs}$  inferiori al limite di rivelazione, indicato dallo strumento nella specifica lettura, per cui le variazioni di radioattività evidenziate devono ritenersi dovute a differente attività di fondo nelle diverse aree imputabile ai radionuclidi naturali come il  $^3\text{H}$ , il  $^{40}\text{K}$  e il  $^{14}\text{C}$  e/o a contaminazioni pregresse, a bassi livelli, con radioisotopi non facilmente determinabili [1].

Pertanto, tutto il materiale controllato è da considerarsi non solo idoneo all'alimentazione umana, perché contenente livelli di  $^{137}\text{Cs}$  inferiori ai limiti di legge, ma esente da contaminazione antropica recente.

Nella tabella 4 (per questioni di spazio è stata pubblicata sul sito [www.sivemp.it](http://www.sivemp.it) nella sezione dedicata al n. 4/2013 di Argomenti) gli stessi dati sono stati raggruppati per comune di provenienza e alla casella riportante le CPS/l normalizzate è stato assegnato il colore della classe di appartenenza in modo da evidenziare visivamente la distribuzione della radioattività rilevata nelle diverse aree oggetto del prelievo (i risultati anomali sono stati contrassegnati in azzurro) mentre i diversi lotti di prelievo sono stati distinti dai colori della parte anagrafica.

Da questa emerge anche che i campioni ovisi o misti hanno dato, in LSC, diversi risultati dubbi fornendo, in particolare, valori bassi non paragonabili a quelli ottenuti su latte bovino per cui si ritiene prudente rimandare a una successiva standardizzazione lo studio di queste matrici.

Come si può notare, nei diversi Comuni la radioattività non mostra un andamento casuale, ma tende ad assumere valori caratteristici del territorio; inoltre i risultati non sembrano influenzati dai diversi lotti di prelievo come si può osservare dai colori distintivi.

Da queste considerazioni si può dedurre che con letture in LSC di almeno 100 minuti è possibile tracciare il profilo

della radioattività ambientale degli allevamenti di lattifere che, se pur con le dovute riserve sull'aspetto quantitativo e sulla stabilità nel tempo di questa caratteristica, permettono di disegnare una mappatura territoriale che distingue zone a diversa incidenza dell'attività di fondo.

Si è proceduto pertanto a inserire su una mappa del territorio i risultati, suddivisi per classi riconoscibili dal colore, in modo da poter evidenziare visivamente la distribuzione dell'attività di fondo (figura 4).

Da una prima sommaria analisi di quanto risulta dall'elaborato topografico emergere una certa correlazione tra l'attività di fondo e le linee altimetriche con un aumento di questa man mano che si sale verso la montagna. Per quanto riguarda il territorio di pianura (monitorato con un numero superiore di campioni) in considerazione del fatto che parecchie aziende con livelli superiori a 57 CPS/l sono concentrate su territori distinti e identificabili si può ipotizzare una radioattività basale territoriale variabile.

In entrambi i casi, trattandosi di radioattività di base, rappresentata soprattutto da radionuclidi naturali, risulta difficile formulare un'ipotesi per questo comportamento per cui si ritiene importante, in futuro, confermare e studiare più approfonditamente tale andamento.

È evidente che questi dati non evidenziano in assoluto il tenore della radioattività locale dei suoli, ma piuttosto quella dell'ambiente allevamento in cui i livelli territoriali, sicuramente i più rappresentati perché acqua e alimenti di base sono sicuramente locali, sono temperati da quelli delle materie prime acquistate, peraltro possibili vie di contaminazione. Le prove eseguite sui campioni citati hanno permesso di accertare che operando con 2 sigma = 2,5%, corrispondente a letture di approssimativamente 100 minuti per campione, è possibile evidenziare le oscillazioni territoriali della radioattività di base e l'eventuale livello di *cut-off* tra campioni negativi e positivi per la presenza di Cesio 137.

## Conclusioni

Il metodo proposto si è dimostrato idoneo, per sensibilità e per rapidità di esecuzione, al rilevamento della presenza di contaminazione antropica da radioisotopi in latte bovino.

Il costo modesto e la possibilità di rendere operativo un sistema di *screening*, in grado di analizzare molti campioni in tempi relativamente rapidi, consentono un controllo approfondito della salubrità radiologica del latte, peraltro utilizzando materiale già campionato contemporaneamente per altri scopi.

Inoltre questa matrice alimentare, considerata un marker della situazione ambientale degli allevamenti, si dimostra anche in grado di evidenziare la radioattività basale del territorio e l'approccio metodologico proposto consentirebbe l'individuazione precoce della distribuzione territoriale di eventuali contaminazioni radioattive sia nei casi di incidenti nucleari sia in caso di arrivo accidentale e imprevisto di contaminanti attraverso materiali non autoctoni.



### Ringraziamenti

I nostri ringraziamenti vanno al personale del Presidio Multizonale di Profilassi e Polizia Veterinaria di Cuneo che ha provveduto ai campionamenti, all'Osservatorio Epidemiologico che ha elaborato le mappe del territorio in modo da rendere visibile la distribuzione dell'attività di fondo, e a tutto il personale tecnico, e amministrativo della Sezione di Vercelli dell'IZS per il supporto e la collaborazione che hanno consentito l'approccio sperimentale di questo lavoro.

### Bibliografia

1. Brini C, Sala L, Magnoni M, Belletto B, Bertino S, Ghigne M, Serena E, Tripodi R. Monitoraggio della radioattività in matrici e indicatori ambientali, prelevati nel territorio biellese (2006-2008) – Atti del convegno “Controllo ambientale degli Agenti Fisici: nuove prospettive e problematiche emergenti”, Vercelli, 24 - 27 marzo 2009.
2. Cazzola P, Carrara A, Bossi D, Montafia M, Manzone P, Balocchi E. “Screening in LSC per individuare i punti critici di ingresso dei radionuclidi da contaminazione”. Argomenti SIVeMP. 2011;1:74-80.
3. Mietelski JW, Gaca P, Bielec J. Optimization of counting

conditions for Cerenkov radiation by LSC® 2006 by the Arizona Board of Regents on behalf of the University of Arizona. “LSC 2005, Advances in Liquid Scintillation Spectrometry”, Edited by Stanislaw Chalupnik, Franz Schönhofer, John Noakes:13-17.

4. National Diagnostics Laboratory Staff. Principles and Applications of Liquid Scintillation Counting”. National Diagnostics, USA. 2004;1-800-526-3867.

5. Perrone V, Platini M. Normativa di riferimento e reti di sorveglianza. Quaderni di Veterinaria Preventiva. 2009; 1.

6. Rapporto ARPA anni 2006 – 2009: La radioattività ambientale in Piemonte.

7. Tovedal A, Nygren U, Ramebäck H. Determination of <sup>90</sup>Sr in preparedness. Optimization of total analysis time for multiple samples. Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry. 2008;276 (2):357-362.

8. Trenti F, Calamosca M, Ripone M. Fattori di trasferimento e fattori di conversione dieta-carne e dieta-latte del <sup>137</sup>Cs nel bovino: possibilità applicative e limiti. Atti della Società Italiana di Buiatria. 1990;XXIOI:565- 573.

9. Trenti F. Il ruolo della Medicina Veterinaria di Sanità Pubblica nella prevenzione delle contaminazioni da radionuclidi degli alimenti di origine animale. Quaderni di veterinaria preventiva. 2009; 1.