

I. Pavan<sup>1</sup>, C. Baroffio<sup>1</sup>, V. Passini<sup>1</sup>, T. Bilei<sup>1</sup>, E. Pira<sup>1</sup>, C. Minoia<sup>2</sup>

## Policlorobifenili: valori di riferimento

<sup>1</sup> Dipartimento di Traumatologia Ortopedia e Medicina del Lavoro Università di Torino

<sup>2</sup> Laboratorio Igiene Ambientale e Tossicologia Industriale Fondazione S. Maugeri Pavia

**RIASSUNTO.** Questo lavoro si propone di: confrontare i lavori presenti in letteratura riportanti valori di PCB in popolazioni non esposte ottenuti su siero e tessuto adiposo; stabilire se sia più significativo dosare i PCB totali o i singoli congeneri; formulare una proposta significativa di strategia analitica al fine di giungere a dosaggi univoci di PCB nel siero e tessuti adiposi, utilizzabile per definire un valore di riferimento per la popolazione italiana non esposta. L'esame della letteratura ha messo in evidenza risultati estremamente variabili nel dosaggio di PCB totali, per la difficoltà analitica di gestire la presenza più o meno contemporanea dei 209 isomeri di PCB. Gli scriventi propongono quindi di limitare tale dosaggio ai congeneri di PCB più tossici e più presenti: 28, 52, 77, 101, 118, 126, 138, 153, 169, 180.

La tecnica analitica da utilizzare è sicuramente la HRGC/ECD in quanto quest'ultima è quella che ha dimostrato, negli anni, di essere la più sensibile e la più affidabile.

**Parole chiave:** PG, policlorobifenili, congeneri, tecnica analitica, popolazione non esposta.

**ABSTRACT.** *www.gimle.fsm.it - The purpose of this work is to compare the PCB values in blood, serum and adipose tissue of non-exposed people over the last twenty years of scientific literature in order to establish whether the determination of single congeners is better than the evaluation of the total PCB amount moreover an analytical strategy useful to define a reference value for non-exposed Italian population has been evaluated.*

*In the literature very variable results were found for the determination of total PCBs in blood, in serum or adipose tissue. We suggest to determine only the amount of the most toxic congeners of PCBs (28,52, 77, 101, 118, 126, 138, 153, 169, 180) by using the HRGC/ECD as analytical technique.*

**Key words:** PCBs, polychlorinated biphenyls, congener, analytical technique, no-exposed people.

### Introduzione

Vengono definiti **Policlorobifenili** (PCBs) una classe di idrocarburi non presenti in natura, ma commercialmente prodotti dalla clorazione diretta del bifenile, aventi formula chimica  $C_{12}H_{10-n}Cl_n$ , con n compreso tra 1 e 10. A seconda del numero degli atomi di cloro e della loro posizione assunta nella molecola, ne deriva la possibile formazione di 209 diversi composti definiti congeneri, a loro volta raggruppati, a seconda del diverso grado di clorazione, in 10 classi di omologhi. All'interno di ciascuna classe i singoli PCB, definiti isomeri, differiscono tra loro esclusivamente per la diversa posizione assunta dagli atomi di cloro (es. 2 dei 12 Triclorobifenili sono gli isomeri 2,3,4-Triclorobifenile e 3,3',5-Triclorobifenile). Il termine PCBs quindi si riferisce ad una miscela di più congeneri, anche se spesso viene considerato come una singola entità chimica. Inoltre molti autori utilizzano, per esempio, il termine PCB riferendosi specificatamente alle miscele commerciali (es. Aroclors) piuttosto che all'intera classe componente. Tali miscele contengono percentuali diverse di cloro (es. 16%, 42%, 48%, 54%, 60%) ed impurità di sostanze tossiche tra le quali Dibenzofurano policlorinato (PCDF) e Naftalene clorinato in concentrazione variabile.

Al fine di rendere più agevole l'identificazione di un singolo congenero dal punto di vista chimico, sono state proposte nel corso degli anni diverse classificazioni; attualmente la più utilizzata (dai ricercatori) è quella di Ballschmiter e Zell (1980) che assegna un numero progressivo da 1 a 209 ai singoli congeneri a seconda del minor o maggior grado di clorazione (1, 2).

Dal punto di vista fisico i PCBs sono caratterizzati da un'elevata stabilità dipendente anch'essa dal diverso grado di clorazione; la distruzione artificiale di tali miscele è possibile solo con processi d'incenerimento. L'unico significativo processo naturale di degradazione chimica ambientale è quello di fotolisi, più attivo sui composti a basso grado di clorazione (emivita in atmosfera di circa 1 giorno) rispetto a quelli ad alto grado di clorazione (emivita in atmosfera fino a 67 giorni). Tali caratteristiche ne determinano la tendenza all'accumulo nell'ambiente e successivamente nella catena alimentare e da qui nelle specie animali, uomo compreso. Esposizioni croniche a PCB possono determinare effetti teratogeni e mutageni in alcune

specie animali, mentre composti altamente clorati inducono tumori in ratti e gatti anche se, in quest'ultimo caso, la relazione con i PCB non è sempre chiara (National Research Council, 1979). Attualmente non vi è evidenza epidemiologica di effetti oncogeni sull'uomo.

Gli effetti tossici dipendono non solo dal grado di clorazione, ma anche dal tipo di isomeri; i PCBs meta e para sostituiti sarebbero maggiormente attivi rispetto agli orto sostituiti.

La natura complessa delle miscele di PCB complica la valutazione del rischio sull'uomo. A tale scopo è stato introdotto da Safe (3) il concetto di TEF (fattore di tossicità equivalente) che esprime il grado di tossicità di ciascun congenere assumendo, come valore di riferimento, la tossicità del 2,3,7,8-Tetraclorodibenzodiossina (TCDD). Il valore di TEF può essere utilizzato per la valutazione del rischio di tossicità da PCB sull'uomo in quanto il meccanismo attraverso il quale PCB e TCDD determinano effetti tossici è comune. Essendo entrambi idrocarburi aromatici alogenati hanno la capacità di legarsi al recettore per gli idrocarburi arilici, una proteina citoplasmatica presente nei tessuti e negli organi bersaglio. Il valore di TEF va dunque tenuto in considerazione nella scelta dei singoli congeneri da analizzare.

I valori dei singoli TEFs, applicabili all'esposizione di PCBs su mammiferi, sono stati calcolati basandosi soprattutto su studi di tossicità subcronica effettuati su animali, che danno risultati più attendibili rispetto a studi biochimici ed in vitro.

I valori di TEFs per congeneri di PCBs proposti dalla World Health Organization nel congresso di Stoccolma del 15-18 giugno 1997 (4) sono rappresentati nella Tabella I.

Tali valori indicano che la tossicità dei singoli congeneri non è direttamente correlata al loro grado di clorazione, ma dipende da altri fattori, tra cui il fatto di essere simili nella stereoisomeria alla 2,3,7,8-Tetraclorodibenzodiossina (TCDD). Per questo i PCB 126 e 169 sono tra i più tossici tra tutti i 209 PCB congeneri.

La notevole inerzia verso altri composti e l'elevata resistenza al calore sono state sfruttate in diverse applicazioni industriali classificate in tre categorie:

1. sistemi chiusi controllabili in cui i PCBs sono utilizzati come fluidi dielettrici in accumulatori e trasformatori (77% dell'utilizzo) con scarse perdite nell'ambiente;
2. sistemi chiusi non controllabili in cui i PCBs sono stati utilizzati come fluidi in sistemi idraulici e radiatori con perdite frequenti nell'ambiente;

3. usi dissipativi in cui i PCBs sono stati utilizzati come: lubrificanti ed oli da taglio, additivi di pesticidi, carta copiatrice, adesivi, composti plastici, vernici. Usi che permettono il diretto contatto di PCBs con l'ambiente.

In alcune nazioni (es. USA dal 1976) l'utilizzo dei PCBs è regolamentato da specifiche norme. La legislazione italiana prevede diversi valori limite per i PCB totali a livello ambientale (acque, acque sotterranee, suolo e sotto-suolo) e fissa un valore limite di 25 ppm per quel che concerne lo smaltimento di rifiuti solidi urbani ed oli usati contenenti PCB (Direttiva 96/59/CE). Nella Tabella II vengono riportate le leggi emanate nel nostro paese relative ai valori limite di PCB in matrici ambientali.

La misura della concentrazione di PCBs totale e dei singoli congeneri in una miscela viene ottenuta mediante analisi gascromatografica con rivelatore a cattura d'elettroni (GC/ECD). Inizialmente la determinazione della concentrazione di PCB nell'ambiente e nelle specie animali era ottenuta con il dosaggio dei PCB totali presenti nel primo caso nell'acqua e nel terreno, nel secondo nei liquidi biologici (sangue, siero e plasma) e tessuti adiposi (5, 6, 7, 8, 9). Alcuni ricercatori, in seguito, hanno dosato esclusivamente alcuni congeneri ritenuti maggiormente rappresentativi del campione in analisi, perché presenti a concentrazioni più elevate (10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19). I congeneri più frequentemente utilizzati sono, secondo la classificazione di Ballschmiter (2), il 28 o 2,4,4'-Triclorobifenile, il 52 o 2,2',5,5'-Tetraclorobifenile, il 101 o 2,2',4,5,5'-Pentaclorobifenile, il 138 o 2,2',3,4,4',5'-Esaclorobifenile, il 153 o 2,2',4,4',5,5'-Esaclorobifenile ed il 180 o 2,2',3,4,4',5,5'-Eptaclorobifenile.

Lo scopo di questo lavoro è quello di mettere a confronto i lavori presenti in letteratura riportanti valori di PCB in popolazioni non esposte ottenuti su siero e tessuto adiposo. Inoltre di stabilire se sia più significativo dosare i PCB totali o i singoli congeneri. Infine formulare una proposta significativa di strategia analitica, al fine di giungere a dosaggi univoci di PCB nel siero e tessuti adiposi che possa essere utilizzata per definire un valore di riferimento per la popolazione italiana non esposta.

## Esame della letteratura

Sono stati selezionati i lavori più significativi disponibili in letteratura dal 1981 ad oggi. Il confronto tra le diverse indagini ha messo in evidenza notevoli differenze nelle concentrazioni dei singoli congeneri anche all'interno degli stessi compartimenti biologici. Tali differenze sono probabilmente dovute in parte ai diversi metodi di estrazione e purificazione adottati per trattare i campioni biologici ed in parte dovuti alla difficoltà analitica di gestire e quantificare i 209 isomeri possibili di PCB (nel caso della valutazione dei PCB totali) o di gruppi di congeneri, quando gli autori si limitano a valutare i congeneri più tossici o più presenti nel comparto biologico analizzato. Il limite di rilevabilità proposto nelle diverse indagini è funzione di diversi parametri quali, ad esempio, la quantità del campione di sangue, il numero di congeneri cercati, la

Tabella I.

CONGENERI	TEF	CONGENERI	TEF
PCB 77	0,0001	PCB 126	0,1
PCB 81	0,0001	PCB 156	0,0005
PCB 105	0,0001	PCB 157	0,0005
PCB 114	0,0005	PCB 167	0,00001
PCB 118	0,0001	PCB 169	0,01
PCB 123	0,0001	PCB 189	0.0001

**Tabella II. Legislazione italiana relativa ai PCB dal 1973 al 2000**

Legge	Valori limite dei PCB	Matrice	Note
D. P. R. 20 settembre 1973, n. 962	assenti	Acque della laguna di Venezia	
D. P. R. 10 settembre 1982, n. 915	500 mg/kg	Rifiuti	Abrogata
D. P. R. 10 settembre 1982, n. 904	0,1% in peso	Immissione sul mercato ed uso sul territorio	Sostituito dall'allegato del D. M. Sanità 9 febbraio 1984
D. M. Sanità 9 febbraio 1984	0,1% in peso	Immissione sul mercato ed uso sul territorio	
D. P. R. 24 maggio 1998, n. 216			Direttiva 85/467/CE: sesta modifica (PCB-PCT) della direttiva 76/769/CE
D. Lgs. 27 gennaio 1992, n. 95	25 ppm	Oli usati	PCB totali
D. Lgs. 5 febbraio 1997, n. 22	25 ppm	Rifiuti solidi urbani	PCB totali
L. 24 aprile 1998, n. 128			Direttiva 96/59/CE del Consiglio: smaltimento PCB e PCT
D. Lgs. 11 maggio 1999, n. 152		Ambiente	Congeneri: 852, 77, 81, 128, 138, 153, 169
D. Lgs. 22 maggio 1999, n. 209	25 ppm	Oli usati	PCB totali
D. M. 26 maggio 1999	0 mg/l	Acqua - Limite di scarico	
	0,00000004 mg/l	Obiettivo di qualità imperativo	
	0,0005 mg/l	Corpo idrico	
	divieto	suolo	
	0,100 mg/l	Acqua	Universal Standard USEPA
	0,050 mg/l	Acqua	Decreto francese 1998
D. M. 25 ottobre 1999, n. 471	0,001 mg/kg (espressi come ss)	Suolo e sottosuolo, siti ad uso verde pubblico, privato e residenziale	
	5 mg/kg (espressi come ss)	Suolo e sottosuolo, siti ad uso commerciale e industriale	
	0,01u/l	Acque sotterranee	

manipolazione del campione, i diversi standard di riferimento utilizzati e la strumentazione utilizzata.

A tale proposito è significativa la Tabella III dove vengono comparati i risultati raggiunti da 5 autori (5, 6, 7, 8, 9) sulle concentrazioni di PCB totali in compartimenti simili (sangue intero e siero) ricavati da soggetti non esposti di cui almeno in parte si conoscevano le abitudini alimentari. Le concentrazioni di PCB totali variano notevolmente tra loro, sia nel corso degli anni, sia tra autore ed autore.

La difficoltà analitica di gestire il dosaggio dei PCB totali ha portato alcuni ricercatori a sostituire tale determinazione con il dosaggio dei congeneri ritenuti più significativi per tossicità e presenza. I PCB congeneri più analizzati in letteratura sono stati il 126 ed il 169 (10, 12, 16, 18, 19) che, in base ai valori di tossicità equivalente (TEF) proposti da Safe (3) e dalla World Health Organization (WHO) (4), risultano essere anche i più tossici; frequentemente dosati sono anche i congeneri 77 (10, 16, 18, 19), 118 (10, 11, 13, 14, 15, 16) e 153 (10, 11, 13, 14, 15, 16, 17).

Il bioaccumulo, che avviene principalmente nel tessuto adiposo, è direttamente proporzionale all'apporto di pesce con la dieta. Per questo motivo tale tipo di ricerca è stata effettuata soprattutto in nazioni che seguono regimi alimentari con alto contenuto di pesce (Svezia, Paesi Bas-

si, Canada, Regioni dei grandi laghi negli USA, Giappone e Corea).

La comparazione dei risultati analitici relativa al singolo congenero è riassunta nella Tabella IV e seguenti.

Anche in questo caso tra i vari autori si riscontrano notevoli differenze di concentrazione nelle misure di uno stesso congenero, su compartimenti biologici simili ed in anni tra loro vicini.

#### **Esame dei metodi analitici**

L'esame della letteratura evidenzia una notevole variabilità di risultati sia nel dosaggio dei PCB totali sia nel dosaggio dei singoli congeneri. Abbiamo quindi messo a confronto i metodi analitici utilizzati dai vari autori, tra cui è stato inserito il metodo utilizzato dal nostro laboratorio per valutare i PCB in soggetti professionalmente esposti.

La Tabella V riporta il confronto dei metodi analitici da cui sono stati estrapolati e confrontati, ove era possibile, i seguenti parametri:

- A. quantità iniziale di campione su cui si è proceduto all'analisi;
- B. standard di riferimento utilizzati per quantificare il contenuto di PCB;

**Tabella III. Concentrazioni min. e max. di PCB totali**

Autore	Concentraz.	Compart. Biologico	Note	Dieta	Nazione
Kreiss K. (1981)	17200 pg/g	Siero	458 persone	Cont. medio di PCB < 5 mg/kg (limite FDA)	
Bercovici B. (1983)	20690 pg/g 103040 pg/g	Siero Siero	7 donne al secondo trimestre di gravidanza 17 donne con minaccia d'aborto recente		
Frank R. (1986/87)	6400 (pg/g) 12200 (pg/g) 6200 (pg/g) 13000 (pg/g)	Sangue Intero Sangue Intero Sangue Intero Sangue Intero	36 residenti in grandi centri urbani 84 residenti in grandi centri urbani 15 residenti in centri urbani medio piccoli 39 residenti in centri urbani medio piccoli		Canada (Ontario) Canada (Ontario) Canada (Ontario) Canada (Ontario)
Fiore B.J. (1989)	2200 (pg/g)	Siero	801 pescatori	Apporto di pesce con la dieta elevato	USA (Wisconsin)
Hanrahan L.P. (1997)	3700 (pg/g) 7200 (pg/g) 1300 (pg/g) 1500 (pg/g) 1600 (pg/g) 2500 (pg/g) 700 (pg/g) 1000 (pg/g)	Siero Siero Siero Siero Siero Siero Siero Siero	89 uomini 98 uomini 3 uomini 57 uomini, donatori di sangue 67 donne 83 donne 3 donne 17 donne	Apporto di pesce con la dieta elevato Apporto di pesce con la dieta elevato Apporto di pesce con la dieta nullo Apporto di pesce con la dieta nullo Apporto di pesce con la dieta elevato Apporto di pesce con la dieta elevato Apporto di pesce con la dieta nullo Apporto di pesce con la dieta nullo	Lago Erie Lago Michigan Lago Huron USA Lago Erie Lago Erie Michigan Lago Huron Lago Erie

**Tabella IV. Concentrazioni minime e massime dei singoli congeneri nei diversi compartimenti biologici**

Cong.	Plasma (pg/g)	Siero (pg/g)	Sangue intero (pg/g)	Tess. Adiposo (pg/g)	N. Articoli
28	20-40		0	7000-11000	2
52			30		1
66			30		1
74			70		1
77	0,04-0,2	0,251-1,38	4,6-6,4	0-400	8
101	0-60		20	300-17000	2
105	20-140	33	30	25-39000	5
118	120-580	366	110-126	41000-160000	8
126	0,73-2,8	0,135-18		1,002-790	9
138	580-660	583	150-464	200	7
151			20		1
153	290-3400	690	190-498	470000-1000000	8
156	130-300		40	20000-90000	3
157	20-60			6600-18000	1
169	0,65-1,8	0,151-0,282		10-570	9
180	500-2000	466	80-265	400000-600000	7
183			20		1
187			60		1

**Tabella V. Metodi analitici**

Autore	Quantità iniziale	Standard utiliz.	Limite di detezione	Sistema di estrazione	Strumentazione
Ausplund L.	120ml sangue	CBR, US/EPA, RSR	0,01-0,1 pg/g plasma	15ml acetonitrile:ac. formico (3:1)+15ml n-esano:dietiletere (9:1)	GC/ECD e GC/MS
Frank R.		Aroclor 1254-1260	6 ug/kg		GC
Hagmar	20ml sangue		0,01-0,05 ng/g sangue	n-esano+metil-tert-butiletere	GC/ECD
Hanrahan L.	30ml siero				GC/ECD
Kang. D	250ml sangue				HRGC/HRMS
Koopman-Esseboom C.			0,01 ng/g plasma	Metanolo; esano-etiletere; sodio solfato	GC/ECD
Mes J.	5ml sangue	Soluz. Standard di PCB preparata in laboratorio		15ml benzene; Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> anidro; 5ml benzene; 10ml esano; 1ml esano	GC/ECD
Patterson D. G.	100g siero (1988); 50g siero (1989); 10g siero (1982)				
Rylander L.				3ml esano+1,5ml ac. formico; 3ml esano; metil-tert-butil etere 1:1; 3ml esano	GC/ECD
Schechter A.	100ml sangue intero 10gr tess. Adiposo				
Nostro laboratorio	5ml sangue	Siero NBS SRM 1589 (Aroclor 1260) Congeneri 28-52-101-138-153-180 JTBaker	0,1 ng/g		GC/ECD

C. limite di sensibilità;

D. sistema di estrazione e purificazione del campione;

E. strumentazione utilizzata.

Il metodo analitico utilizzato nel nostro laboratorio per il dosaggio dei PCB su plasma in soggetti potenzialmente esposti è il seguente:

Vetreteria:

- Provette coniche in vetro.
- Vial conici in vetro da 300 µl, con tappo a ghiera.
- Pipette graduate in vetro classe A con fondoscala da 0,5, 1, 2, 5 ml.
- Pipette Pasteur in vetro con punta fine.

Tutta la vetreria deve essere lavata accuratamente, risciacquata prima con acqua distillata, e poi con acetone al fine di eliminare ogni possibile residuo.

- Colonnine per estrazione in fase solida (SPE) C18 da 3 ml, 500 mg di riempimento.

Reagenti e Solventi:

- Acetone per analisi
- Metanolo per analisi dei residui organici
- Acqua distillata grado reagente
- Ammoniaca 25% suprapur
- Iso-Ottano per analisi dei residui organici
- Toluene per analisi dei residui organici
- n-Esano per analisi dei residui organici
- Gel di silice 100 (70-230 mesh ASTM) per cromatografia.

Strumentazione utilizzata:

- Centrifuga ALC
- Gascromatografo con rivelatore a cattura di elettroni (ECD) modello 5890 Hewlett Packard.

Con colonna capillare SE54 di lunghezza 50 m, diametro interno 0,32 mm, spessore fase 0,25 µm, iniettore split-splitless.

Standard di riferimento:

- Siero SRM 1589 NBS a concentrazione di 100 ng/ml di aroclor 1260
- Standard di congeneri J.T.Baker (congeneri n° 8-18-28-44-52-66-77-101-105-118-126-128-138-153-170-180-187-195-206).

Campione di sangue: Prelievo di sangue eparinato almeno 5 ml, che viene centrifugato a circa 3500 rpm.

Preparazione del campione:

Due ml di plasma vengono posti in una provetta conica e conservati in frigorifero a 4 °C fino al momento dell'analisi. Si aggiunge 1 ml di Metanolo, agitando energicamente il campione al fine di precipitare le proteine contenute. Centrifugare ad almeno 3500 rpm per 10 minuti.

Aggiungere 10 µl di standard interno (p,p'DDT). Condizionare una colonnina SPE prima con 3 ml di Metanolo, seguiti da 3 ml di acqua distillata. Porre in essa il surnatante, precedentemente centrifugato, e lasciare eluire spontaneamente. Lavare la colonnina prima con 3 ml di acqua

distillata e poi con 3 ml di una soluzione di Ammoniaca al 15%. Fare asciugare bene la colonnina facendo passare molti ml di aria. Eluire con 3 ml di Iso-Ottano e raccogliere l'eluato in una nuova provetta conica. Portare a secco con un leggero flusso di azoto.

Preparare una colonnina cromatografica con 0,5 g di silice.

Condizionare la colonnina cromatografica con 2 ml di Toluene.

Riprendere la provetta di siero portata a secco con 3 aliquote da 100 µl di toluene e porle sulla silice.

Eluire con 3 ml di Toluene, in una nuova provetta conica.

Portare nuovamente a secco sotto leggero flusso di azoto.

Riprendere il residuo con due aliquote da 150 µl di n-Esano in un vial conico con capacità di 300 µl.

Tappare con una ghiera ed iniettare 1 µl nel sistema gascromatografico.

#### Condizioni Strumentali:

Iniettore splitless, a temperatura di 300 °C con Purge On a 0.75 minuti.

Temperatura iniziale del forno 50 °C per 2 minuti, rampa A 8 °C al minuto fino a raggiungere la temperatura di 180 °C.

Rampa B 3 °C al minuto fino a raggiungere la temperatura di 300 °C da mantenere per 10 minuti.

Il rivelatore posto alla temperatura di 350 °C.

#### Controllo di qualità

Il metodo sopra descritto e da noi utilizzato per la valutazione dei soggetti professionalmente esposti e che porta sia alla valutazione di PCB totali sia a quella dei singoli congeneri è in accordo con le norme per la qualità ISO 9001/2. I laboratori possono richiedere la partecipazione a confronti interlaboratoriali al fine di ottenere la certificazione di qualità per alcune analisi tossicologiche. Il controllo interlaboratoriale viene effettuato inviando a tutti i laboratori partecipanti un identico campione di siero di 5 ml contenente sei congeneri (28,52,101,138,153,180) dei quali il laboratorio partecipante al controllo di qualità deve fornire la concentrazione ottenuta dopo analisi. I valori ottenuti vengono confrontati con i risultati dell'elaborazione statistica dei dati forniti dai vari laboratori partecipanti al controllo. Se il laboratorio partecipante al controllo rientra all'interno della deviazione standard (D.S.) viene certificato a livello europeo come rispondente ai requisiti di idoneità per l'analisi dei PCB.

#### Discussione

La necessità di avere valori di riferimento nella popolazione non esposta, che possano essere utilizzati in medicina del lavoro per indicare un possibile valore limite biologico per soggetti professionalmente esposti a PCB, obbliga quindi a cercare di standardizzare il più possibile la

metodica analitica, al fine di raggiungere risultati univoci e comparabili tra i vari laboratori.

L'esame della letteratura e dei vari metodi analitici utilizzati dai diversi ricercatori effettuato nel presente lavoro permette di evidenziare quali sono i parametri analitici che occorre standardizzare:

- A. quantità iniziale di campione su cui si è proceduto all'analisi;
  - B. sistema di estrazione e purificazione del campione;
  - C. standard di riferimento utilizzati per quantificare il contenuto di PCB;
  - D. limite di sensibilità;
  - E. strumentazione utilizzata.
- Si propone quindi che, al fine di produrre un valore di riferimento per la popolazione italiana non esposta, di utilizzare un metodo analitico che consenta:
- A. di identificare il comparto biologico più idoneo da utilizzare in analisi;
  - B. di dosare i PCB congeneri più tossici e più presenti;
  - C. di utilizzare tecniche di estrazione e purificazione univoche;
  - D. di utilizzare standard di riferimento certificati per singoli congeneri;
  - E. di utilizzare tecniche analitiche basate sulla GC/ECD.

Pertanto sulla base dell'esperienza condotta dal nostro laboratorio e dall'esame dei dati di letteratura si propone un metodo analitico che utilizzi come comparto biologico il siero nella misura di 5 ml in quanto più facilmente disponibile.

L'esame della letteratura ha evidenziato che il dosaggio di PCB totali conduce a risultati estremamente variabili in quanto è difficile, sotto il profilo analitico, gestire la presenza più o meno contemporanea dei 209 isomeri di PCB. Occorre quindi limitare tale dosaggio ai congeneri di PCB più tossici e più presenti. Gli scriventi propongono che il dosaggio dei PCB venga limitato ai seguenti congeneri: 28, 52, 77, 101, 118, 126, 138, 153, 169, 180. La possibilità di gestire il dosaggio di soli 10 congeneri (circa il 5% del totale) dovrebbe portare a ridurre in modo significativo le disparità dei risultati attualmente presenti in letteratura.

Le tecniche d'estrazione e purificazione devono essere univoche per tutti i laboratori e si propone quindi di utilizzare estrazioni in fase solida e reagenti ad elevato grado di purezza.

La tecnica analitica da utilizzare è sicuramente la HRGC/ECD in quanto quest'ultima è quella che ha dimostrato, negli anni, di essere la più sensibile e la più affidabile.

#### Bibliografia

- 1) WHO. Environmental Health Criteria for Polychlorinated Biphenyls and Terphenyls, 1976, Geneva, Switzerland.
- 2) Erickson MD. Analytical Chemistry of PCBs. Ann Arbor Science 1986.
- 3) Safe SH. Development Validation and Problems with the Toxic Equivalency Factor Approach for Risk Assessment of Dioxins and Related Compounds. J Anim Sci 1998 Jan; 76(1): 134-141.
- 4) WHO European Centre for Environment and Health. Assessment of the Health Risk of Dioxins: Re-evaluation of the Tolerable Daily Intake (TDI). May 25-29 1998, Geneva, Switzerland.

- 5) Kreiss K, Zack MM, Kimbrough RD, Needham LL, Smrek AL, Jones BT. Association of Blood Pressure and Polychlorinated Biphenyl Levels. *Jama* 1981 Jun 26; 245(24): 2505-2509.
- 6) Bercovici B, Wassermann M, Cucos S, Ron M, Wassermann D, Pines A. Serum Levels of Polychlorinated Biphenyls and some Organochlorine Insecticides in Women with Recent and Former Missed Abortions. *Environmental Research* 1983 Feb; 30(1): 169-174.
- 7) Frank R, Braun HE, Thorpe B. Comparison of DDE and PCB Residues in the General Diet And in Human Blood-Ontario 1986-87. *Bull Environ Contam Toxicol* 1993; 51: 146-152.
- 8) Fiore BJ, Anderson HA, Hanrahan LP, Olson LJ, Sonzogni WC. Sport Fish Consumption and Body Burden Levels of Chlorinated Hydrocarbons: a Study of Wisconsin Anglers. *Archives of Environmental Health* 1989 Mar-Apr; 44(2): 82-88.
- 9) Hanrahan LP, Falk C, Anderson HA, Draheim L, Kanarek MS, Olson J, and The Great Lakes Consortium. Serum PCB And DDE Levels of Frequent Great Lakes Sport Fish Consumers-A First Look. *Environmental Research Section* 1999; A; 80: S26-S37.
- 10) Asplund L et Al. Polichlorinated Biphenyls, 1,1,1-trichloro-2,2-bis(*p*-chlorophenyl) ethane (*p,p'*-DDT) and 1,1-dichloro-2,2-bis(*p*-chlorophenyl)-ethylene (*p,p'*-DDE) in Human Plasma Related to Fish Consumption. *Archives of Environmental Health* 1994 Nov/Dic; 49(6).
- 11) Hagmar L, Becher G, Heikkilä A, Frankman O, Dyremark E, Schütz, A, Ahlberg UG, Dybing E. Consumption of Fatty Fish from the Baltic Sea and PCB in Whole Venous Blood, Plasma and Cord Blood from Delivering Women in the Åland/Turku Archipelago. *Journal of Toxicology and Environmental Health* 1998; Part A; 53(8).
- 12) Kang D, Tepper A, Patterson DG. Coplanar PCBs and relative contribution of Coplanar PCBs, PCDDs, and PCDFs to the total 2,3,7,8-TCDD toxicity equivalents in Human serum. *Chemosphere* 1997; 35(3): 503-511.
- 13) Koopman-Esseboom C, Huisman M, Weisglas-Kuperus N, Boersma ER, De Ridder MAJ, Van der Paauw CG, Th. Tuinstra LGM, Sauer PJJ. Dioxin and PCB Levels in Blood and Human Milk in Relation to Living Areas in the Netherlands. *Chemosphere* 1994; 29(9-11): 2327-2338.
- 14) Koopman-Esseboom C, Huisman M, Weisglas-Kuperus N, Boersma ER, Van der Paauw CG, Th Tuinstra LGM, Sauer PJJ. PCB and Dioxin Levels in Plasma and Human Milk of 418 Dutch Women and their Infants. Predictive Value of PCB Congener Levels in Maternal Plasma for Fetal and Infant's Exposure to PCBs and Dioxins. *Chemosphere* 1994; 28(9): 1721-1732.
- 15) Mes J. Polychlorobiphenyl in Children's Blood. *Environmental Research* 1987; 44: 213-220.
- 16) Patterson DG Jr, Glenn DT, Turner WE, Maggio V, Alexander LR, Needham LL. Levels of Non-*ortho*-Substituted (Coplanar), Mono- and Di-*ortho*-Substituted Polychlorinated Biphenyls, Dibenzo-*p*-Dioxins, and Dibenzofurans in Human Serum and Adipose Tissue," *Environmental Health Perspectives Supplements* 1994; 102 (Suppl 1): 195-204.
- 17) Rylander L, Strömberg U, Dyremark E, Östman C, Ehle PN, Hagmar L. Pylchlorinated Biphenyls in Blood Plasma among Swedish Female Fish Consumers in Relation to Low Birth Weight. *American Journal of Epidemiology* 1998; 147(5): 493-502.
- 18) Schecter A, Kassis I, Pöpke O. Partitioning of Dioxin, Dibenzofurans, and Coplanar PCBs in Blood, Milk, Adipose Tissue, Placenta and Cord Blood from Five American Women. *Chemosphere* 1998; 37(9-12): 1817-1823.
- 19) Schecter A, Ryan JJ, Pöpke O. Decrease in Levels and Body Burden of Dioxins, Dibenzofurans, PCBs, DDE, and HCB in Blood and Milk in a Mother Nursing Twins over a Thirty-eight Month Period. *Chemosphere* 1998; 37(9-12): 1807-1816.