

bioaccumulo di microinquinanti nella rete trofica marina



I quaderni di Arpa

© 2010 Arpa Emilia-Romagna
Via Po 5, 40139 - Bologna. Tel. 0516223887 - Fax 0516223801
<http://www.arpa.emr.it> - arpared@arpa.emr.it

I quaderni di Arpa

Direttore **Stefano Tibaldi**
Direttore responsabile **Giancarlo Naldi**
Responsabile scientifico **Vito Belladonna**
Coordinamento editoriale **Giancarlo Naldi**
Impaginazione **Nicolas Campagnari (Odoya srl)**

Stampato su carta Fedrigoni Free Life Satin - 80% fibre riciclate, 15% cellulosa proveniente da boschi coltivati e regolarmente reimpiantati. Il trattamento di sbiancatura è eseguito senza l'impiego di cloro gassoso e a PH neutro e senza sbiancanti ottici.

Chiuso in redazione nel mese di dicembre 2010
ISBN 88-87854-26-8

Bioaccumulo di microinquinanti nella rete trofica marina

Paola Martini

con la collaborazione di
Gabriele Castellari*
Ivan Scaroni*
Carla Rita Ferrari**
Attilio Rinaldi**

*Arpa Emilia-Romagna Sezione provinciale di Ravenna,
via Alberoni, 17/19 - 48121 Ravenna (RA)
(sezra@arpa.emr.it)

**Arpa Emilia-Romagna Struttura Oceanografica Daphne,
v.le Vespucci, 2 - 47042 Cesenatico (FC)
(daphne@arpa.emr.it)

Indice

Premessa	7
Introduzione	9
1 Alcuni concetti di ecologia	11
2 Riferimenti normativi	17
3 Area geografica e organismi indagati	21
4 Microinquinanti inorganici	37
5 Microinquinanti organici	69
6 Conclusioni	125
Bibliografia	131
Appendici	141
Allegati	159

Premessa

L'Adriatico è un mare inquinato, povero di vita... errate convinzioni di un luogo comune più diffuso di quanto si possa credere. Molte le responsabilità, non ultima quella di una stampa troppo emotiva e poco informata. Una credenza inaccettabile anche perché in forte contrasto sia con i dati analitici prodotti da molti Istituti di ricerca e Agenzie altrettanto titolate, che con i riscontri oggettivi relativi allo sbarcato e al commercio dei prodotti ittici: questi dati danno ancora oggi all'Adriatico la patente di mare più pescoso del Mediterraneo.

Se di particolari alterazioni dello stato ambientale in aree e periodi ben definiti si vuole parlare occorre far riferimento non all'inquinamento vero e proprio, quello dovuto alla massiccia immissione nell'ambiente di molecole sintetizzate dall'uomo, ma ai fenomeni di eutrofizzazione. Un processo relativamente recente e non ancora del tutto sopito. Si è avuta indubbiamente una mitigazione di questo fenomeno rispetto alle manifestazioni che si verificavano negli anni '70 e '80 del passato secolo, resta comunque ancora da completare il piano degli interventi normativi e di risanamento del bacino padano che richiederebbero una rivitalizzazione e una maggiore attenzione. Si tratta soprattutto di carichi eccessivi di nitrati e fosfati provenienti da attività antropiche. Quando in eccesso e in particolari condizioni meteorologiche e idrologiche possono provocare proliferazioni algali con effetti secondari indesiderati, spesso dannosi per l'ecosistema marino e per quelle attività che l'uomo rivolge al mare quali il turismo e la pesca.

Per acquisire informazioni aggiornate sul reale stato di inquinamento generato da molecole potenzialmente pericolose e persistenti nel 2003 si diede vita ad un programma finalizzato allo studio dei livelli di inquinamento negli organismi viventi. L'areale interessato dal progetto era quello marino antistante la costa della nostra Regione. Si decise di analizzare la questione sulla catena trofica focalizzando l'attenzione su raggruppamenti e specie che rappresentavano posizioni chiave nella rete alimentare; dal fitoplancton fino ai grandi predatori passando dallo zooplancton, dai filtratori e dai piccoli predatori. Si seguì sia la vita pelagica che quella bentonica per avere un quadro più "ecosistemico" del problema. Dai dati acquisiti, dati ben rappresentati in questa pubblicazione, emerge un quadro organico delle conoscenze, una esaustività che va oltre a quanto già si sapeva dalla letteratura di settore. Anche perché questa spesso fa riferimento solo ad alcune delle componenti biologiche qui considerate.

In estrema sintesi credo si possa affermare che l'Adriatico non è più inquinato degli altri mari italiani e del Mediterraneo. La domanda che ci si deve porre è un'altra: il Mediterraneo è più inquinato dei molti altri mari extramediterranei e degli oceani? Dai dati rappresentati in molta della letteratura scientifica di settore sembrerebbe di sì, soprattutto (ma non solo) per certi composti persistenti quali i PCB, il DDT e suoi derivati e le Diossine.

Parliamo ora del Mediterraneo e della sua conservazione. La logica di bacino deve anche in questo caso ispirare il nostro pensiero. L'unicità terra-mare-atmosfera rappresenta il vitale rapporto fisiologico di un unico "organismo" ove le interazioni tra fiumi, costa, mare e clima rappresentano il "motore" che condiziona la vita di questa realtà geografica. Il citato approccio integrato si rafforza se si considera che una qualsiasi molecola di un qualsiasi inquinante immesso in mare da un fiume o da un polo petrolchimico (si fa per dire) può tranquillamente vagare per il Mediterraneo attraverso il gioco delle correnti e i vari passaggi tra un anello della catena trofica, e il successivo è finire così in una vongola pescata nelle sabbie di un sito lontano migliaia di chilometri dal punto di immissione. Quell'inquinante una volta liberato appartiene a tutti e raramente porta l'indirizzo del mittente. Si tratta di un problema globale e come tale non debbono mancare criteri unitari e integrati di governo; è indubbio che le disparità socio-economiche tra le due sponde possono aggravare i rapporti e ridurre le opportunità di dialogo. Spetta alla Comunità Europea, in particolare ai Paesi comunitari bagnati dal Mediterraneo, aprirsi e fare uno sforzo per incontrare l'altra sponda, avviare con loro programmi di mitigazione degli impatti e di conservazione del bene comune. Una buona parte delle cose da fare è già stata tracciata da Organismi internazionali, tra tutti si cita l'UNEP (United Nations Environment Programme delle Nazioni Unite); dai suoi reports emerge una chiara definizione delle fonti di inquinamento, le quantità immesse e i guasti generati, è ora necessario fare incontrare la politica con la scienza e dar corso al governo condiviso delle pressioni e delle azioni di mitigazione per raggiungere un livello di buona qualità nel Mediterraneo.

Un particolare ringraziamento va rivolto a Paola Martini e ai colleghi della Sezione Provinciale dell'ARPA di Ravenna. La loro perseveranza e professionalità hanno reso possibile la realizzazione di questo quaderno.

Attilio Rinaldi
Direttore
Struttura Oceanografica Daphne
ARPA Emilia-Romagna

Introduzione

Si valuta la presenza di inquinanti organici e inorganici in alcuni componenti della rete trofica dell'Alto Adriatico. Il lavoro si basa sulla necessità di conoscere l'entità dell'eventuale presenza di microinquinanti quali mercurio, piombo, cadmio, IPA, PCB e PCDD-PCDF. La ricerca è stata condotta su organismi del fitoplancton e dello zooplancton, nell'ambito della catena trofica pelagica e di alcune specie del benthos. Per la catena pelagica sono prese in esame *Engraulis encrasicolus* (alice), *Sardina pilchardus* (sardina), *Scomber scombrus* (sgombrò) e *Euthynnus alletteratus* (tonno alletterato); mentre per il benthos sono stati analizzati *Chamelea gallina* (vongola), *Mytilus galloprovincialis* (mitilo) e *Gobius paganellus* (paganello). Tutti gli organismi analizzati sono stati prelevati o pescati nel tratto di mare antistante la costa emiliano-romagnola. Tutte le considerazioni sono riportate a tempo 1 e tempo 2, due momenti dell'anno 2003, che si collocano rispettivamente nei mesi di maggio-giugno e ottobre-novembre.

Lo studio della presenza di microinquinanti nel biota, oltre ad essere utile al fine di definire l'impatto ambientale arrecato da fenomeni di inquinamento massivo, è necessario per valutare il rischio per la salute dell'uomo quale consumatore terminale.

Dall'analisi dei dati raccolti emerge che generalmente al tempo 1 le concentrazioni dei metalli nelle diverse specie sono più elevate che al tempo 2; non si nota bioaccumulo per cadmio e piombo lungo la rete trofica esaminata. Per quanto riguarda il mercurio si osserva invece un incremento lungo la linea pelagica passando dalle specie planctoniche a quelle ittiche. Gli organi target sono: organi interni per il cadmio, branchie e organi interni per il piombo mentre per il mercurio si registra una distribuzione omogenea nei vari tessuti.

I livelli di contaminazione complessivi di PCDD e PCDF espressi in WHO-TEQ sono dell'ordine del pg/g peso fresco.

La specie a più elevato rischio tossicologico è risultata il tonno alletterato con 1,46 pg-WHO-TEQ/g peso fresco che comunque risulta inferiore al valore massimo di 4 pg-WHO-TEQ/g previsto dal Regolamento (CE) N. 1881/2006.

La contaminazione da PCB appare essere la più significativa, rispetto agli altri microinquinanti organici, sia per livelli di concentrazione che per bioaccumulo. Per quanto riguarda il bioaccumulo, le concentrazioni dei PCB totali riferiti al grasso mostrano un chiaro incremento lungo la rete trofica. Infine, per quanto riguarda gli IPA, le basse concentrazioni riscontrate non mettono in evidenza fenomeni di bioaccumulo lungo la rete trofica.

I. Alcuni concetti di ecologia

I.1. Reti trofiche

Le catene alimentari sono schemi lineari di rappresentazione mostrandoti il trasferimento di energia e di materia organica attraverso vari livelli trofici. Il concetto stesso di catene alimentari è un tentativo per ridurre la complessità del sistema naturale a dimensioni semplici (Figura I-1).

Ogni livello trofico è popolato da organismi che prendono l'energia principalmente dal livello trofico inferiore in simile maniera, anche se la maggior parte delle specie non si colloca in un unico livello trofico convenzionale, infatti alcune specie cambiano dieta con l'età o a seconda dell'abbondanza delle diverse tipologie di prede, altre sono onnivore (pascolano su fitoplancton, zooplancton, detrito, esoscheletri di crostacei), altre sono parassite (Lalli e Parson, 1993).

Risalendo i livelli trofici, l'energia viene dispersa sotto forma di calore e questo fa sì che vengano posti dei limiti al numero di livelli trofici possibili per ogni comunità.

Anche la taglia degli individui e il tempo di generazione (lunghezza del ciclo vitale) aumentano passando a livelli trofici superiori; la lunghezza del ciclo vitale del fitoplancton si misura in ore o giorni, quella dello zooplancton in settimane o mesi, quella dei pesci in anni e quella dei mammiferi marini in molti anni.

Le catene alimentari dei sistemi marini sono molto più aperte rispetto a quelle dei sistemi terrestri essendo questi ultimi caratterizzati da relazioni strette predatore-predatore dove solo una o al massimo un limitato numero di prede sono consumate dai predatori (Isaacs, 1973). Le interazioni multiple fra gli organismi dell'ecosistema

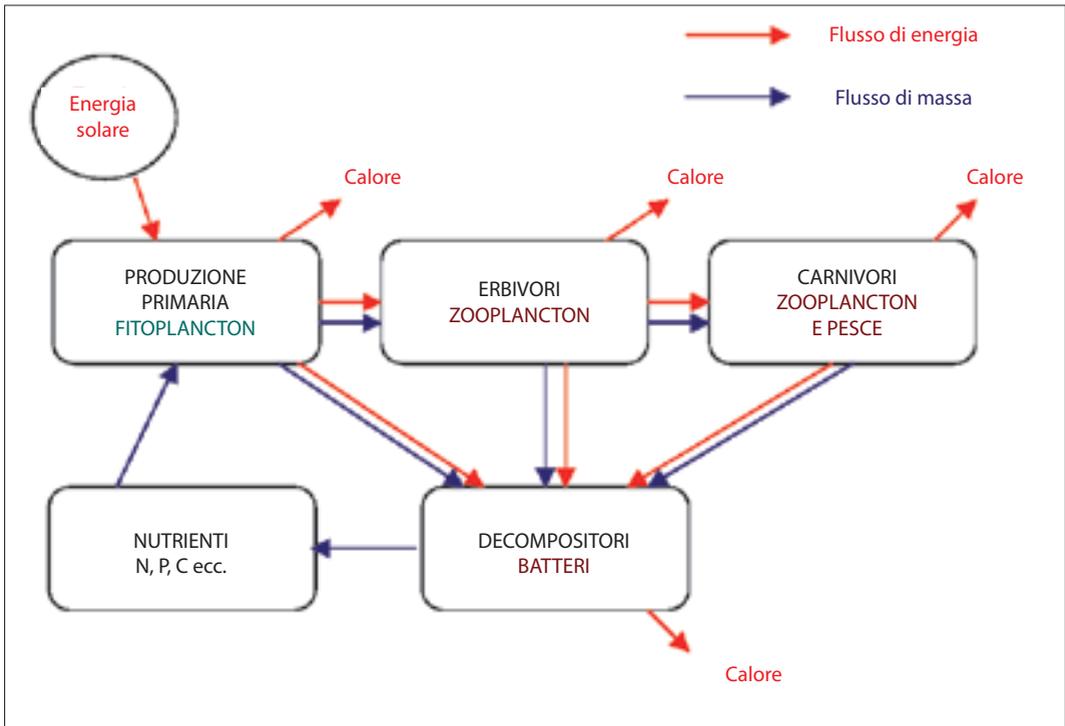


Figura I-1 Schematizzazione dei flussi di massa e di energia di un'ipotetica rete trofica marina (Lalli e Parsons, 1993).

marino vengono meglio rappresentate dalla “rete alimentare” anche se i flussi di massa e di energia sono più difficili da quantificare. Questi aspetti contribuiscono a ridurre le probabilità di osservare i fenomeni di bioaccumulo e di biomagnificazione, infatti, non è semplice rilevare il comportamento alimentare delle varie specie.

Negli studi condotti da Isaacs nel 1970 veniva calcolato il rapporto cesio/potassio (Cs/K), rapporto fra un elemento non essenziale e uno essenziale, per confrontare due strutture trofiche: la prima aperta della costa californiana e la seconda chiusa di Salton Sea. I risultati mostravano che è più semplice rilevare il bioaccumulo nel sistema chiuso. Isaacs ipotizzava che l’ecosistema mare aperto fosse un sistema non strutturato dove i predatori si nutrono di diverse specie così, che i contaminanti non sono biomagnificati lungo una precisa catena alimentare. Il caso opposto si verifica in un ecosistema “mare chiuso” dove i predatori hanno a disposizione una scelta più limitata di prede così che ogni contaminante potrebbe essere biomagnificato seguendo una catena meglio definita (Gray, 2002).

La complessità degli studi sulla biomagnificazione deriva da molti fattori. I dati esistenti in letteratura spesso non sono confrontabili fra di loro perché discendono dall’applicazione di metodi differenti. Un aspetto ricorrente è che alla base della rete trofica gli organismi, data la loro piccola taglia, vengono analizzati come campione medio mentre ai vertici si scelgono specifici tessuti (per esempio nel caso di grandi mammiferi marini di solito si prendono in esame muscolo e fegato). In tutto questo va tenuto presente che molti composti xenobiotici si accumulano preferenzialmente in specifici tessuti. Quindi un incremento di concentrazione da un gradino trofico a uno più elevato, quando il sistema di campiona-

mento non è omogeneo, non dice nulla riguardo alla biomagnificazione ma può solo sottolineare l’evidenza che certi tessuti accumulano gli inquinanti più di altri.

1.2. Bioaccumulo

Il Bioaccumulo viene definito come processo che provoca un incremento della concentrazione chimica di un composto xenobiotico, in un organismo acquatico rispetto alla concentrazione presente in acqua, dovuto a tutte le vie d’esposizione: trasporto attraverso le superfici respiratorie e dermali; assunzione attraverso il cibo. BAF, fattore di bioaccumulo, equivale al rapporto fra la concentrazione dell’inquinante nel biota (CB) e concentrazione totale dell’inquinante in acqua (CWT).

$$\text{BAF} = \text{CB}/\text{CWT}$$

Il fenomeno del Bioaccumulo può essere rappresentato come una combinazione della Bioconcentrazione (assorbimento di composti xenobiotici solo dall’acqua attraverso le superfici respiratorie e/o la pelle, BCF fattore di bioconcentrazione) e dell’assorbimento di composti xenobiotici attraverso gli alimenti.

La Biomagnificazione è un caso speciale di bioaccumulo in cui la concentrazione chimica del composto inquinante nell’organismo è maggiore rispetto alla concentrazione dello stesso composto nell’organismo che costituisce la sua dieta. Il fattore di biomagnificazione (BMF) è il rapporto fra le concentrazioni del composto xenobiotico nell’organismo (CB) e nell’organismo dieta (CA):

$$\text{BMF} = \text{CB}/\text{CA}$$

La biomagnificazione avviene quando il rapporto fra la concentrazione degli elementi in traccia nei tessuti di un organismo e la concentrazione degli elementi nel suo cibo è maggiore di uno ($C_B/C_A > 1$). Così tracce di elementi che sono biomagnificati hanno potenziale di trasferimento trofico (TTP) maggiore di 1 (Reinfelder *et. al.*, 1998).

$$C_B/C_A = TTP = AE \times IR / (Ke + g) > 1$$

Il potenziale di trasferimento trofico è direttamente proporzionale al prodotto AE (efficienza di assimilazione dell'elemento ingerito, %) e IR tasso di ingestione (giorno^{-1}) e inversamente proporzionale alla somma delle perdite dell'elemento dovute a g (tasso di crescita, giorno^{-1}) e Ke (valore legato alle perdite fisiologiche attraverso le varie vie di eliminazione, giorno^{-1}).

Ci sono due approcci generali per valutare, quindi quantificare, il fenomeno del bioaccumulo. Il primo è un approccio em-

pirico dove BCF (fattore di bioconcentrazione) o BAF (fattore di bioaccumulo) può essere dedotto dalla relazione fra la concentrazione nell'organismo (es. pesce) e la contaminazione ambientale (es. acqua o sedimenti) Questi valori, se calcolati su campioni ambientali, possono essere soggetti a errori dovuti per esempio alla variabilità biologica, tuttavia nonostante questi problemi rappresentano le condizioni reali e non sono solo il risultato di un modello previsionale che ha lo scopo di riprodurre tali condizioni attraverso la regressione lineare di $\log BCF$ o $\log BCA$ rispetto a $\log K_{ow}$ (K_{ow} coefficiente di ripartizione ottanolo-acqua). Il secondo approccio, più laborioso, consiste nell'organizzare un modello di bilancio di massa in cui vengono quantificati gli assorbimenti e le perdite di composti xenobiotici (Figura 1-2). Questo modello richiede necessariamente molte informazioni che riguardano la caratteristiche chimiche dell'inquinante e la fisiologia dell'organismo come i dettagli sulla respi-

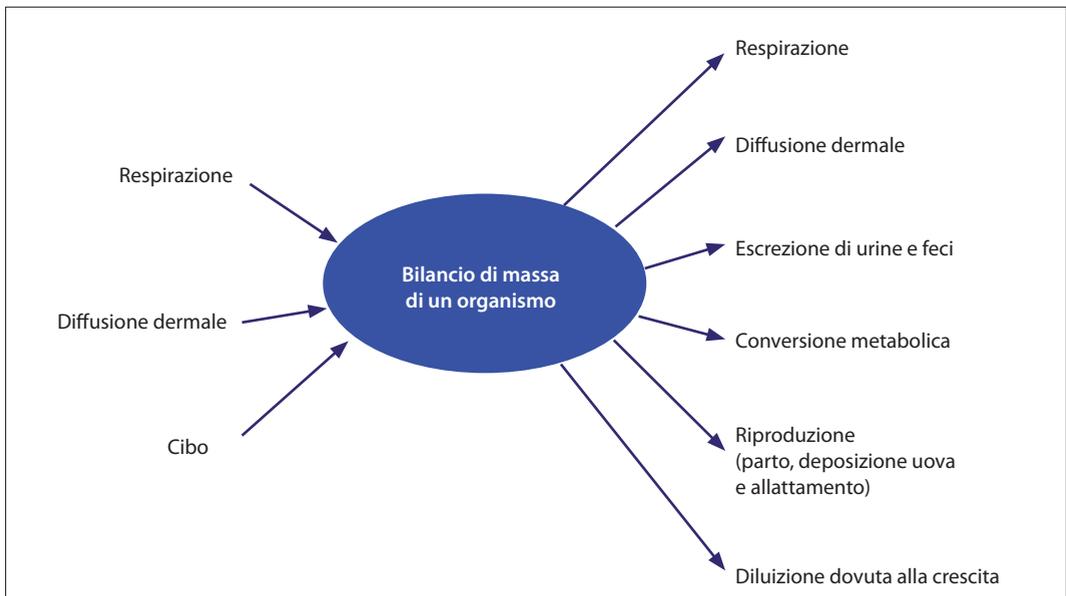


Figura 1-2 Meccanismi di assorbimento ed eliminazione applicabili ad un generico organismo (Mackay e Fraser, 2000).

razione, il tasso di nutrizione e l'efficienza dell'assorbimento. Il vantaggio di questo secondo modello, che viene definito meccanicistico (Mackay e Fraser, 2000), è che l'effetto di diluizione dovuto alla crescita e il tasso metabolico specifico dell'inquinante in esame sono inclusi.

Il BAF, fattore di bioaccumulo, è strettamente legato al K_{OW} dei contaminanti (Clark *et al.*, 1990). Quando K_{OW} è basso ($10^4 - 10^5$) le sostanze chimiche si trovano in forma completamente solubile in acqua. Per $K_{OW}=10^6$ metà si trovano adsorbite e metà disciolte e per $K_{OW}=10^8$ tutte le sostanze chimiche si trovano in forma adsorbita. Questo implica grosse variazioni sulla biodisponibilità che si ripercuote sul BAF (Tabella 1-1).

Solo composti con $K_{OW} > 2 \times 10^6$ (e BCF > 114.000) hanno invece propensione alla biomagnificazione (Leblanc, 1995).

Nel caso più specifico, prendendo in esame singoli congeneri di policlorobifenili, un significativo fattore di biomagnificazione (> 5) si ha solo per congeneri con $\log K_{OW}$ più alto di 6 ma non superiore a 7.5 (i.e. composti superidrofobici). Questo effetto può essere dovuto (a) resistenza al trasporto di molecole ad alto peso molecolare attraverso le membrane o (b), elevata capacità legante dei composti altamente apolari al cibo nel tratto gastrointestinale con conseguente eliminazione (Metcalf e Metcalf, 1997).

In ambiente acquatico è difficile conoscere con precisione i legami trofici fra una specie e l'altra ma questo aspetto è fondamentale

per una attenta analisi di biomagnificazione (Mihue e Minshall, 1995). Le valutazioni sulla biomagnificazione, che coinvolgono confronti fra specie differenti, possono risultare ambigue. Per esempio il paragone fra pesci e invertebrati può essere affetto da errori dovuti alle differenze biologiche fra specie (Young *et al.*, 1980). Nel caso dei pesci, alcuni elementi in traccia si accumulano nel fegato (Bendall-Young e Harvey, 1986) mentre nel muscolo si trovano in concentrazioni molto basse (es. Ag, Cd, Cu, Cr, Pb, Zn; Hg e Se sono eccezioni) (Wiener e Giesy, 1979).

Il muscolo rappresenta il tessuto più abbondante nei pesci (circa 97%) così la concentrazione degli elementi in traccia, se si considera un campione medio, è in larga misura influenzata dal muscolo, che ha un'azione regolatrice, e in minor misura da fegato e reni in cui certi xenobiotici si concentrano e riflettono meglio l'entità dell'esposizione. Nel caso degli invertebrati invece anche il campione medio complessivo è esplicativo dell'esposizione.

Per quanto concerne il mercurio, la biomagnificazione del metilmercurio in reti alimentari acquatiche è stata ampiamente dimostrata (Lindquist *et al.* 1991, Watras e Bloom 1992). L'arricchimento di metilmercurio rispetto a mercurio inorganico nei predatori acquatici è dovuto alla maggiore affinità del mercurio organico con il tessuto adiposo (Boudou e Ribeyre 1985, Riisgard e Hansen 1990, Saouter *et al.* 1993, Mason *et al.* 1996). Tassi costanti di perdita per metilmercurio per molte specie sono bassi (<0.001 giorni⁻¹) (Cunningham e Tripp 1975, Fowler *et al.* 1978, Riisgaard *et al.* 1985, Trudel e Rasmussen 1997). L'efficienza di assimilazione dal cibo è alta (60-75%) quindi la biomagnificazione nel caso del metilmercurio è comunemente osservata (Figura 1-3).

$\log K_{OW}$	4	5	6	7	8
BCF	565	5448	39742	105385	119017

Tabella 1-1 La tabella riporta i valori in relazione al fattore di bioaccumulo e coefficiente di ripartizione ottanolo/acqua.

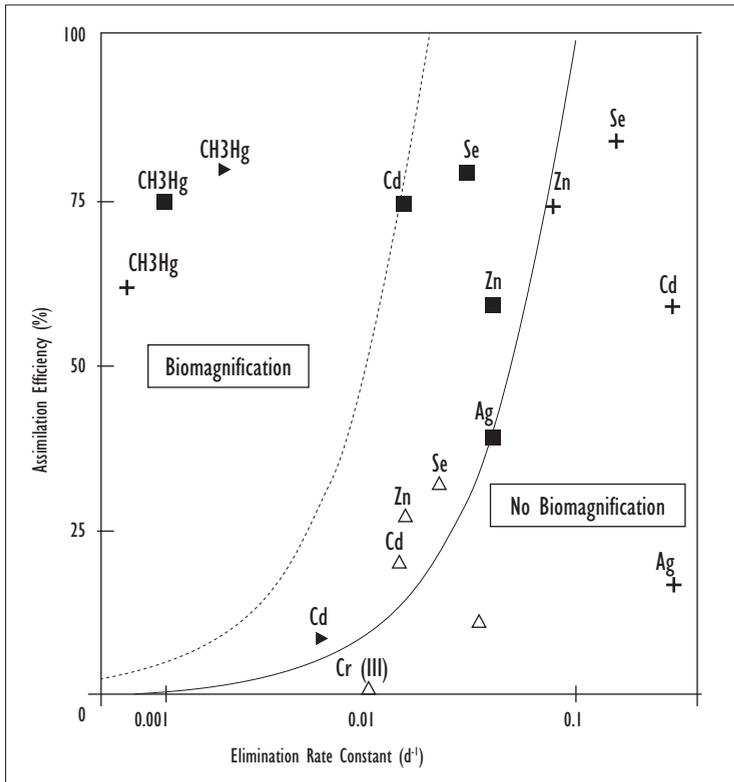


Figura 1-3 La figura mostra le regioni di biomagnificazione e non biomagnificazione in Zooplankton (coepodi, +), bivalvi (*Crassostrea virginica*, *Mercenaria mercenaria*, *Macoma balthica*, ■; *Mytilus edulis* △) e pesce ▶ previste dalla misura del coefficiente di assimilazione (%) e tasso costante di eliminazione per i diversi elementi in traccia (Reinfelder *et al.*, 1998).

Per quanto riguarda il cadmio si hanno tassi di perdita costanti pari a 0.01 giorno⁻¹ ed efficienza di assimilazione che varia ampiamente in funzione del tipo di cibo. Per esempio nel caso in cui il cadmio sia adsorbito al sedimento la percentuale di efficienza di assimilazione è molto bassa e quindi la biomagnificazione non è probabile in organismi che si nutrono prevalentemente di detriti o entrano in contatto con sedimenti ricchi di solfuri. Mentre la biomagnificazione può essere attesa per organismi filtratori oppure per organismi predatori, che assumono l'elemento rispettivamente dal fitoplancton o dalle loro prede con AE (efficienza di assimilazione dell'elemento ingerito, %) superiore al 20%. Alta efficienza di assimilazione del cadmio può essere associata alla presen-

za del metallo nella frazione citoplasmatica della cellula (che è la forma maggiormente trasferibile dell'elemento dal cibo ingerito) (Reinfelder e Fisher, 1991).

Il Piombo fa parte di un gruppo di elementi che non risultano biomagnificabili quindi non è assunto, o solo in minima parte, tramite la dieta (Hodson *et al.*, 1978).

Il meccanismo attraverso il quale il pesce regola l'accumulo di elementi in traccia tramite la dieta è scarsamente conosciuto, sono sconosciuti i meccanismi mediante i quali avviene la distribuzione nei diversi tessuti. In generale i metalli si accumulano nei tessuti che fanno parte del sito di assorbimento (branchie e/o intestino) oppure fegato e reni.

2. Riferimenti normativi

Direttiva 2000/60/CE del Parlamento Europeo e del Consiglio del 23 ottobre 2000 che istituisce un quadro per l'azione comunitaria in materia di acque.

Lo scopo della presente direttiva è istituire un quadro per la protezione delle acque superficiali interne, delle acque di transizione, delle acque costiere e sotterranee, contribuendo a realizzare gli obiettivi degli accordi internazionali in materia, compresi quelli miranti a impedire ed eliminare l'inquinamento dell'ambiente marino, con azione comunitaria ai sensi dell'articolo 16, paragrafo 3, per arrestare o eliminare gradualmente gli scarichi, le emissioni e le perdite di sostanze pericolose prioritarie al fine ultimo di pervenire a concentrazioni, nell'ambiente marino, vicine ai valori del fondo naturale per le sostanze presenti in natura e vicine allo zero per le sostanze sintetiche antropogeniche.

Dispone inoltre che gli standard di qualità ambientale necessari per il raggiungimento nei corpi idrici superficiali di un buono stato chimico siano definiti sulla base dei criteri di tossicità ed ecotossicità. Ai punti 29 e 30 dell'Articolo 2 vengono definite rispettivamente:

sostanze pericolose: le sostanze o gruppi di sostanze tossiche, persistenti e bioaccumulabili e altre sostanze o gruppi di sostanze che danno adito a preoccupazioni analoghe;

sostanze prioritarie: le sostanze definite ai sensi dell'articolo 16, paragrafo 2, ed elencate nell'allegato X (sostituito dall'Allegato II "MODIFICA DELL'ALLEGATO X DELLA DIRETTIVA 2000/60/CE" della Gazzetta Ufficiale dell'Unione europea del 22 maggio 2007). Tra queste sostanze, vi sono "sostanze pericolose prioritarie" che sono quelle definite ai sensi dell'articolo 16, paragrafi 3 e 6, che devono essere oggetto di misure a norma dell'articolo 16, paragrafi 1 e 8;

Decreto Legislativo. 3 aprile 2006 n. 152. Norme in materia ambientale.

La parte terza riguarda le norme in materia di difesa del suolo e lotta alla desertificazione, di tutela delle acque dall'inquinamento e di gestione delle risorse idriche. La parte terza contiene inoltre le norme di recepimento della direttiva 2000/60/CE, che istituisce un quadro per l'azione comunitaria in materia di acque.

D.M. 23 luglio 2003. Recepimento della Direttiva 2002/69/CE della Commissione del 30 luglio 2002 relativa ai metodi di campionamento e d'analisi per il controllo ufficiale di diossine e la determinazione di PCB diossina-simili nei prodotti alimentari.

Il presente Decreto è stato modificato dal D.M. 13 dicembre 2005 (recepimento della direttiva 2004/44/CE della Commissione del 13 aprile 2004, che modifica la direttiva 2002/69/CE).

Regolamento (CE) n. 1881/2006 della Commissione del 19 dicembre 2006. Definisce i tenori massimi di alcuni contaminanti nei prodotti alimentari.

Il Regolamento sostituisce il regolamento (CE) n. 466/2001 della Commissione dell'8 marzo 2001, che definisce i tenori massimi di taluni contaminanti presenti nelle derrate alimentari, prevede per muscolo di pesce, prodotti della pesca e loro derivati, un livello massimo di diossine (PCDD+PCDF) pari a 4 pg OMS-PCDD/F-TEQ/g peso fresco e un tenore massimo somma di diossine e PCB diossina-simili pari a 8 pg OMS-PCDD/F-PCB-TEQ/g peso fresco. Il regolamento precisa che le concentrazioni sono upper bound cioè calcolate ipotizzando che tutti i valori dei vari congeneri inferiori al limite di quantificazione siano pari al limite di quantificazione.

Il regolamento precisa inoltre il tenore massimo di 2 µg/Kg di peso fresco per il

Benzo(a)pirene (utilizzato come marcatore della presenza e degli effetti degli idrocarburi policiclici aromatici cancerogeni) nel muscolo di pesce e 10 µg/Kg di peso fresco nei molluschi bivalvi.

La Tabella 2-1 di seguito riportata indica i limiti massimi ammissibili per i metalli pesanti.

Decreto 14 aprile 2009, n. 56 del Ministero dell’Ambiente e della tutela del territorio e del mare. Regolamento recante “Criteri tecnici per il monitoraggio dei corpi idrici e l’identificazione delle condizioni di riferimento per la modifica delle norme tecniche del decreto legislativo 3 aprile 2006 n. 152, recante Norme in materia ambientale, predisposto ai sensi dell’articolo 75, comma 3, del decreto legislativo medesimo”.

L’Allegato I del presente Decreto stabilisce i criteri per il monitoraggio e la classificazione delle acque in funzione degli obiettivi di qualità ambientale.

Le modalità per la classificazione dello stato ecologico dei corpi idrici (fiumi, laghi, acque di transizione e acque marino-costiere) prevedono elementi qualitativi (elementi biologici, elementi idromorfologici a sostegno degli elementi biologici, condizioni morfologiche, elementi chimici e fisico-chimici a sostegno degli elementi biologici, inquinanti specifici).

Al fine di raggiungere e mantenere un buono stato chimico vengono fissati standard di qualità per le diverse matrici: colonna d’acqua, sedimenti e biota.

Gli Standard di qualità nel biota si applicano ai tessuti (peso umido). L’organismo bioaccumulatore di riferimento per le acque marino-costiere è il Mitile (*Mytilus galloprovincialis*, Lamarck 1819). La conformità viene valutata rispetto alla concentrazione rilevata in un unico campionamento. Se sono stati effettuati ulteriori campionamenti nel corso dell’anno la conformità viene valutata sulla media dei campionamenti effettuati.

Cd	0,10 mg/Kg Sardina, Tonno, Alice 0,050 mg/Kg Muscolo di pesce (Sgombro) 1,0 mg/Kg Molluschi bivalvi
Hg	0,50 mg/Kg Prodotti della pesca e muscolo di pesce. Molluschi, Sardina, Sgombro, Alice 1,0 mg/Kg Tonno
Pb	1,5 mg/Kg Molluschi bivalvi 0,30 mg/Kg Muscolo di pesce

Tabella 2-1 Limiti vigenti in Italia (Regolamento CE N. 1881/2006) per i metalli pesanti nei prodotti ittici. I valori sono espressi in mg/Kg di peso fresco.

Sostanze	SQA-MA*
Mercurio e composti	20 µg/kg
Esaclorobenzene	10 µg/kg
Esaclorobutadiene	55 µg/kg

Tabella 2-2 Standard di Qualità biota (Stato Chimico), Tabella. 3/A del D.M. 14 aprile 2009, n.56. *Standard di qualità ambientale espresso come valore medio annuo (SQA-MA).

3. Area geografica e organismi indagati

3.1. Inquadramento geomorfologico dell'area marina

Il Mare Adriatico, localizzato nella parte Nord del Mediterraneo Centrale, è un bacino semichiuso (è lungo 800 km e largo da 90 a 200 km) compreso tra la penisola italiana ad Ovest e la penisola balcanica ad Est e collegato al Mediterraneo Orientale mediante il Canale di Otranto (75 km di larghezza).

Il bacino può essere suddiviso in tre subaree e presenta una batimetria piuttosto regolare;

- NORD ADRIATICO: profondità media 35 m;
- MEDIO ADRIATICO: profondità media 140 m ed una depressione (Fossa di Pomo) che raggiunge 250 m di profondità;
- SUD ADRIATICO: caratterizzata da una depressione più ampia che raggiunge una profondità massima di 1200 m.

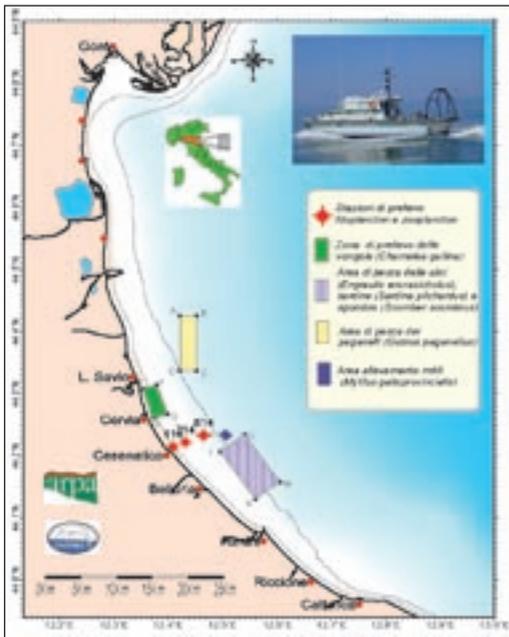


Figura 3-1 Posizionamento delle aree di prelievo e campionamento del biota.

L'area di indagine considerata in questo lavoro è una parte della regione costiera dell'Adriatico Nord-Occidentale prospiciente la regione Emilia Romagna (Figura 3-1).

3.2. Condizioni meteorologiche e idrodinamiche

Dal punto di vista idrodinamico il Mare Adriatico presenta una forte variabilità stagionale con rimescolamento verticale della colonna d'acqua in inverno e stratificazione, con formazione del termoclino, tra primavera e estate (Zoppini *et al.* (1995), Rapporti Regione Emilia Romagna-ARPA S.O.D. Stato Eutrofico (1987-2009), Montanari e Pinardi (2006))

Tale variabilità è regolata dal runoff dei fiumi, dal cambiamento dei forzanti atmosferici e dagli scambi attraverso il Canale d'Otranto che mantengono in equilibrio il bilancio termico e salino (Totti *et al.*, 2000). Inoltre anche la presenza di molti fiumi che sfociano nel bacino, come il Po, l'Adige e il Piave nella zona Nord ed alcuni fiumi della costa albanese nella zona Sud, ha effetti sulla circolazione oltre che sull'ecosistema e fa sì che il Mare Adriatico sia considerato un bacino di diluizione.

Il Mare Adriatico è caratterizzato da un sistema di circolazione di tipo ciclonico durante tutto l'anno, con la formazione di due vortici permanenti: uno situato nella zona centrale del bacino in corrispondenza della Fossa di Pomo, l'altro nella parte Sud in corrispondenza della zona depressionaria più profonda. Questi sono associati ad un flusso d'acqua che entra nell'Adriatico attraverso il Canale d'Otranto, fluisce verso Nord lungo le coste croate e ridiscende verso Sud lungo le coste italiane. In autunno l'intensificarsi del flusso di questa corrente diretta verso Nord determina la formazione di un

terzo vortice anche nella zona Nord del bacino (Raicich, 1996).

La presenza della Bora (vento freddo e secco proveniente da NE) nella parte Nord del bacino, durante l'inverno determina un rapido raffreddamento delle acque superficiali, diventano più dense (densità 29,4-29,9 kgm⁻³; Temp.9-12°C; Salinità 38,1- 38,4 psu) e affondano (Bergamasco *et al.*, 1999).

La struttura verticale e la circolazione dell'Adriatico generalmente vengono descritte tenendo conto di tre diversi strati ai quali vengono associate masse d'acqua con caratteristiche differenti:

- STRATO SUPERFICIALE con acque più "dolci" fortemente influenzate dal runoff dei fiumi diretto da Nord a Sud. Queste acque sono localizzate a 0-20 m di profondità nel Nord Adriatico, a 0-50 m nel Medio Adriatico e nel Sud Adriatico;
- STRATO INTERMEDIO con acque di origine levantina che mescolandosi con le acque locali vanno a costituire le MLIW (Modified Levantine Intermediate Water)(S. 38,5- 38,6 psu; T. 13,5°C). Queste acque si muovono da Sud verso Nord ad una profondità tra 150-400 m nel Sud Adriatico e tra 50-150 m nel Medio Adriatico;
- STRATO PROFONDO con acque dense (densità 29,1-29,2 kgm⁻³; Temp. 11,35-13,16°C; Salinità 38,3-38,6 psu) che costituiscono le deep water e sono presenti al di sotto dei 20 m nel Nord Adriatico, sotto i 150 m nel Medio Adriatico, sotto gli 800 m nel Sud Adriatico.

3.3. Caratteristiche chimico-fisiche e stato ecologico delle acque

Il bacino settentrionale è caratterizzato da consistenti input fluviali soprattutto del bacino del fiume Po che, attraversando una

delle zone agricole, industriali più produttive e urbanizzate d'Italia, trasporta in mare circa il 50% del carico totale di nutrienti. Oltre ai carichi di sostanze ad effetto eutrofizzante la conformazione della costa e la scarsa profondità del sub-bacino settentrionale hanno effetto sinergico (Rinaldi *et al.*, 1995). È ormai dimostrato che l'effetto "golfo" che si genera fra il delta del fiume Po e la parte più a Nord della costa emiliano-romagnola impone tempi lunghi di permanenza delle acque con conseguente formazione di intensi blooms fitoplanctonici, soprattutto nei mesi invernali, dominati dalle diatomee. Le acque discendenti della corrente generale, che tendono a fluire verso Sud lambendo il delta, determinano sottocosta un vortice con senso orario, recluso sia dal fluire della corrente dominante che dal fronte costituito dalle acque aperte a più elevata densità. Un'altra causa al rallentamento complessivo della dinamica delle acque, va attribuito alle dighe foranee del porto di Ravenna. Queste, protraendosi per 3 Km perpendicolarmente alla linea di costa, incidono sull'idrodinamica costiera con effetti riduttivi sui fattori di diluizione/dispersione. A Sud del porto di Ravenna la situazione si diversifica per via della conformazione lineare della costa che tende a ridurre i tempi di permanenza dei reflui dei fiumi e degli insediamenti costieri. In linea di massima si ha una incidenza dei fenomeni che, per intensità, diffusione e permanenza evidenziano un trend tendente alla diminuzione passando da Nord a Sud e da costa verso il largo.

La fascia costiera del Nord Adriatico è interessata da oltre vent'anni da processi di eutrofizzazione (abnorme sviluppo di microalghe) che si manifestano frequentemente. La conseguente formazione di condizioni ipossiche/atossiche negli strati profondi, soprattutto nei periodi estivi e autunnali genera-

no impatti negativi, oltre che sugli equilibri ambientali dell'ecosistema bentonico, anche sul settore produttivo della pesca.

Il 2003 è stato un anno molto siccitoso pertanto caratterizzato da forte riduzione delle portate del fiume Po dell'ordine di $1000 \text{ m}^3\text{s}^{-1}$ sulla media delle portate del 2002 (da $1871,4 \text{ m}^3\text{s}^{-1}$ del 2002 a $852,0 \text{ m}^3\text{s}^{-1}$ del 2003). Si è verificato inoltre un anomalo innalzamento della temperatura delle acque nel periodo estivo e assenza dei processi di eutrofizzazione. La presenza di aggregati mucillaginosi si è manifestata solo nel mese di giugno con rari affioramenti e veloce scomparsa dovuta ad una importante perturbazione generata da venti di Libeccio che ha interessato la costa romagnola fra il 2 e il 5 luglio 2003.

Il Mare Adriatico è esposto a possibili apporti di inquinanti sia organici che inorganici trasportati dai corsi d'acqua che attraversano zone industriali o aree interessate da attività agricole e zootecniche intensive. Lo sviluppo industriale rivierasco di siti come Porto Marghera o Ravenna è all'origine di un significativo inquinamento delle acque costiere limitrofe. L'attività industriale contribuisce alla contaminazione delle acque marine anche attraverso le emissioni atmosferiche delle grandi concentrazioni produttive del Nord Italia e dell'Europa centrale nonché attraverso lo scarico diretto al largo effettuato da imbarcazioni commerciali e navi cisterna (Cubadda et al., 1998). In Tabella 3-1 vengono riportate le principali fonti di contaminazione industriale.

A questi apporti vanno aggiunti quelli derivanti dagli scarichi di alcuni insediamenti urbani piccoli e grandi. Non si possono trascurare gli effetti locali prodotti da anomalie geochimiche come quella legata al giacimento di cinabro di Idrija. Stime effettuate negli anni '80 davano un quadro preoccupante dell'entità dell'immissione di contaminanti nell'Adriatico. Infatti questo mare, costretto in un bacino quasi chiuso e con bassi fondali, accoglie il 32% dell'input complessivo di mercurio nel Mediterraneo e totalizza il 30% del carico di piombo presente nell'area, oltre al 16% di quello di pesticidi organoclorurati.

3.4. Biota

Lo studio è affrontato partendo da fitoplancton e zooplancton e seguendo una linea pelagica e una bentonica (Figura 3-2). Per la linea pelagica si prendono in esame *Engraulis encrasicolus* (alice), *Sardina pilchardus* (sardina), *Scomber scombrus* (sgombro) e *Euthynnus alletteratus* (tonno alletterato) mentre per quella bentonica *Chamelea gallina* (vongola), *Mytilus galloprovincialis* (mitilo) e *Gobius paganellus* (paganello).

3.4.1. Fitoplancton

I principali gruppi tassonomici che costituiscono la popolazione fitoplanctonica costiera includono in prevalenza diatomee, dinoflagellate e altre fitoflagellate minori. Tali gruppi sono responsabili frequentemente di "fioriture" nelle acque costiere regionali dove determinano fenomeni di "acque co-

Prodotti chimici	Industria tessile e del cuoio	Metalli e cantieri	Prodotti alimentari	Legno e carta	Industria estrattiva
7,3%	65,0%	3,0%	10,0%	13,8%	0,9%

Tabella 3-1 Origine dei rifiuti industriali nel Mare Adriatico (Rapporto ISTISAN 98/11) (Cubadda et al., 1998).

lorate". Mentre le fioriture da diatomee si presentano con ricorrenza nel periodo fine inverno-inizio primavera in relazione all'ingresso di acque dolci dal bacino Padano e da quelle costiere, le fioriture da dinoflagellate hanno invece il loro massimo sviluppo nel periodo estivo - inizio autunno. In entrambi i periodi di indagine, pur non rag-

giungendo densità significative, le diatomee erano prevalenti sulle dinoflagellate con un massimo di 827.562 cellule per litro nel mese di novembre. Nel periodo primaverile si è avuta anche la presenza della microalga eterotrofa *Noctiluca scintillans* che si è manifestata a chiazze discontinue di colore arancione (Figura 3-3, Figura 3-4 e Figura 3-5).

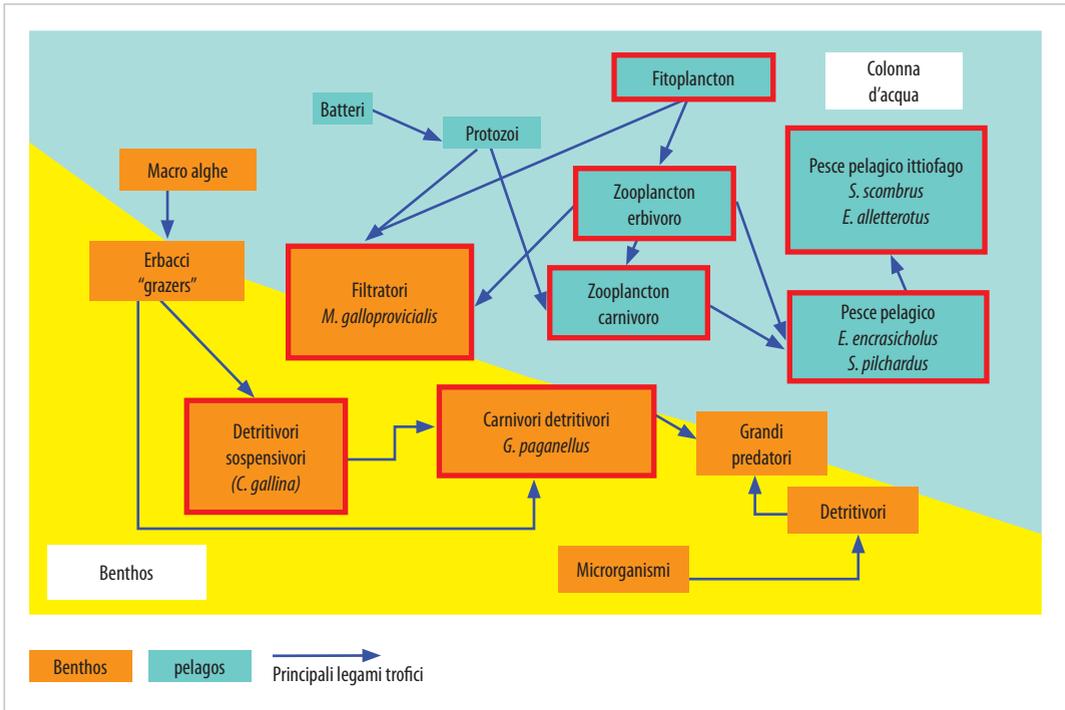
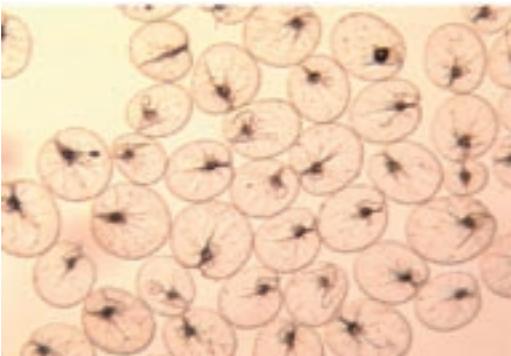


Figura 3-2 Schematizzazione della rete trofica presa in esame.

a) *Noctiluca scintillans*



b) Cellule fitoplanctoniche

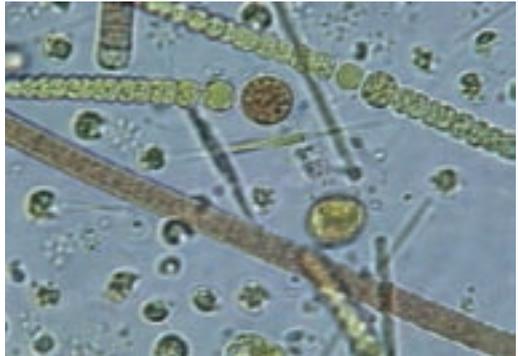


Figura 3-3 Organismi fitoplanctonici. Foto tratte dall'archivio fotografico della Struttura Oceanografica Daphne.



Figura 3-4 Fioritura di *Noctiluca scintillans*. Immagine tratta dall'archivio della Struttura Oceanografica Daphne.

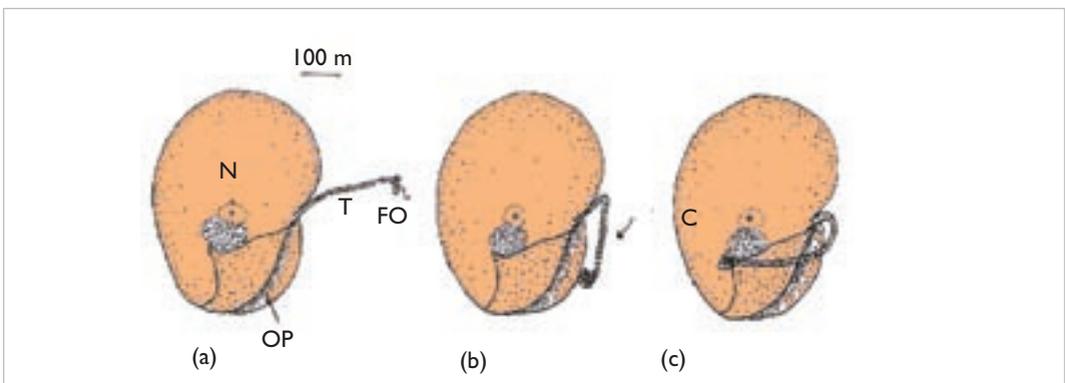


Figura 3-5 Meccanismo di cattura e ingestione del cibo (altre alghe e batteri) da parte di *Noctiluca*. (a) Il tentacolo (T) è in fase di estensione. Alcuni organismi, che costituiscono il cibo (FO) vengono catturati dall'estremità distale del tentacolo ricoperta di muco. (N) Nucleo; (OP) Cavità orale. (b) tentacolo ripiegato dentro la cavità orale. (c) Il citosoma (C) è alla base dell'apertura della cavità orale aperta, il tentacolo è inserito dentro al citosoma e il cibo viene racchiuso dentro al vacuolo digestivo (Nawata e Sibaoka, 1983).

3.4.2. Zooplancton

Lo zooplancton è il plancton animale eterotrofo che per la sua alimentazione utilizza sostanze precostituite. Si indicano con il termine di zooplancton tutti gli organismi eterotrofi che si nutrono per fagotrofia (assunzione di particelle viventi e non). Lo zooplancton può essere suddiviso in base ad un criterio dimensionale:

- microzooplancton <200 μm
- mesozooplancton da 0,200 a 20 mm (raccolto con rete da 200 μm)
- macrozooplancton 2-10 cm (raccolto con il nection)

Lo zooplancton, a parte qualche eccezione (Schifomeduse, Physalia, Salpe), è costituito da organismi di piccole dimensioni, essendo

a) Copepode



b) Cladocero



Figura 3-6 Organismi zooplanctonici. Foto tratte dall'archivio fotografico del Centro Ricerche Marine Cesenatico-FC.

per lo più di taglia inferiore a un cm e in genere non supera mai i 2 o 3 cm.

Gli organismi campionati appartengono al mesozooplankton; nei periodi di indagine Copepodi (Figura 3-6a) e Cladoceri (Figura 3-6b) costituiscono la frazione dominante dello Zooplankton con variazioni legate alla stagionalità. La popolazione dei Cladoceri evidenzia in generale valori elevati a fine primavera e inizio estate con concentrazioni minime nei mesi invernali. Mentre la popolazione dei Copepodi presenta le maggiori densità nel periodo autunno-inverno.

Gli animali planctonici hanno tipicamente due modi di nutrirsi: la filtrazione e la predazione. I crostacei filtrano volumi più o meno grandi di acqua attraverso griglie formate da setole che si trovano sulle appendici boccali o su quelle toraciche. Particolarmente efficace è l'apparato filtratore dei copepodi. I filtratori vengono considerati erbivori ma in realtà catturano gli organismi a seconda delle dimensioni. Può così accadere che vengano trattenuti, oltre alle alghe delle differenti specie, anche protozoi, piccoli metazoi e particelle in sospensione di varia natura (compreso materiale inerte o composti xenobiotici adsorbiti su materiale organico in sospensione) (Ghirardelli, 1991). In generale i filtratori sono più ab-

bondanti dei predatori ogni qualvolta la frazione fitoplanctonica è abbondante.

3.4.3. Alice (*Engraulis encrasicolus*)

La specie *Engraulis encrasicolus* (Linnaeus, 1758) (Figura 3-7), appartiene alla famiglia Engraulidae, corpo moderatamente compresso, muso a punta; lunghezza fino a 20 cm (generalmente di 12-15 cm). Dorso blu verdastro; nel dorso e lungo i fianchi corre una lunga fascia scura; ventre bianco argenteo (Riedl, 1991).

È una specie con abitudini gregarie e migratorie; si muove in banchi molto numerosi che si avvicinano alle coste nelle stagioni calde, attirati dalla presenza di plancton (in prevalenza copepodi) di cui si nutrono.

Il pigmento che ricopre il corpo, coperto da squame iridescenti, dà all'insieme del banco una luce azzurro-argentea caratteristica.

Questo pesce di piccole dimensioni costituisce uno dei maggiori rappresentanti del pesce azzurro.

Engraulis encrasicolus è molto comune nei nostri mari: per buona parte dell'anno vive



Figura 3-7 *Engraulis encrasicolus*.

vicino alla costa soprattutto durante il periodo riproduttivo (aprile-settembre), mentre nelle stagioni fredde si sposta a profondità maggiori; ogni femmina emette fino a 40.000 uova.

Si adatta bene a sbalzi di salinità dell'acqua e per questo spesso si trova anche nelle lagune, negli stagni salmastri o negli estuari.

La sua abbondanza è proporzionale alla quantità di cibo disponibile; l'Adriatico, il canale di Sicilia e il Golfo di Genova presentano le popolazioni più numerose.

La pesca avviene tutto l'anno e il quantitativo di pescato aumenta soprattutto nel periodo della posa delle uova, che nel Mediterraneo avviene fra maggio e settembre.

3.4.4. *Sardina (Sardina pilchardus)*

La specie *Sardina pilchardus* (Walbaum, 1792) (Figura 3-8) appartiene alla famiglia delle Clupeidae. Questa mostra margine ventrale leggermente carenato solo dietro alle pinne ventrali che sono inserite sotto oppure dietro la metà della dorsale. Presenta varie macchie nere non ben definite dietro l'opercolo e dorso verde oliva; lungo i fianchi corre una fascia bluastra e il ventre è bianco argenteo (Riedl, 1991).

Nei nostri mari la lunghezza giunge fino a 18 cm, ma altrove è assai maggiore: fino a 27 cm nelle regioni più occidentali del Mediterraneo, fino a 35 cm in Atlantico.

I Clupeidae sono generalmente gregari, pelagici, planctofagi; vivono in gran parte in mare, ma alcuni risiedono stabilmente in acqua dolce e altri sono migratori anadromi (si dice di pesce che, risalendo le correnti,



Figura 3-8 *Sardina pilchardus*.

passa dal mare in un fiume per riprodursi). Questi pesci hanno grande importanza economica e sono tipici rappresentanti del cosiddetto "pesce azzurro".

La distinzione delle specie non è facile. Grande interesse ai fini sistematici hanno le branchiospine, il cui numero cresce con l'età; importante è pure il numero delle vertebre che differisce più o meno sensibilmente a seconda delle popolazioni.

La temperatura è il fattore più importante che agisce sulla vita delle sardine, con modalità diverse a seconda della loro età. L'areale risulta compreso fra le isoterme di 10-20°C. La distribuzione è quindi più abbondante nel bacino occidentale del Mediterraneo, nell'Atlantico N-E dalle Canarie al Mare del Nord e scarsa nel Mar Nero. La salinità può oscillare fra il 27 e il 40‰, ma oltre il 38‰ si dimostra meno favorevole. La specie *Sardina pilchardus* è abbondante lungo le nostre coste ed è un piccolo migratore: nel periodo della riproduzione si riunisce in banchi che si avvicinano alla costa e restano in prossimità della superficie; nei mesi invernali si allontana e si rifugia al largo in acque profonde.

Si trova fino a 180 m di profondità, ma vive generalmente tra i 25 e i 35 m di giorno, mentre di notte si spinge fino a pochi cm dalla superficie. In Adriatico scendono più a Sud durante l'inverno; di solito si mantengono al disotto del termoclino, in acque a circa 15°C.

L'alimentazione consiste soprattutto di copepodi, a cui si aggiungono altri elementi dello zooplankton e anche del fitoplankton. La riproduzione ha luogo praticamente tutto l'anno, ma l'intensità massima si verifica in inverno. Ogni femmina emette da 50-80.000 uova all'anno. Esse sono pelagiche, sferoidali e la larva schiude dopo 2-4 giorni. L'abbondanza delle larve è in diretto rapporto con quella del fitoplankton e in mi-

nor misura con quella dello zooplancton. La durata della vita è probabilmente di 5 anni nel Mediterraneo e 14 nell'Atlantico.

Tonni, naselli, delfini, ecc. sono predatori di sardine mentre acciughe, sgombri, tracuri, ecc. si comportano da competitori.

3.4.5. Sgombro (*Scomber scombrus*)

Scomber scombrus Linnaeus, 1758 (Figura 3-9) appartiene alla famiglia Scombridae. Il genere è caratterizzato da pinne dorsali molto distanziate; 5-6 false pinne; prima dorsale breve e peduncolo codale con carena sottile. La specie è contraddistinta da 9 raggi spiniformi nella prima dorsale; occhi piccoli; grandi scaglie pettorali assenti, vescica natatoria assente; lunghezza fino a 45 cm; dorso di colore verde blu, con linee nerastre ben definite e sinuose, ventre privo di punti verdastri (Riedl, 1991).

Vive nel Mediterraneo, Adriatico, Mar Nero, Atlantico orientale (dalla Norvegia a Madeira) e occidentale (dal Canada alla Carolina). Gli sgombri formano banchi numerosi, i quali compiono migrazioni portandosi in acque più costiere all'epoca della riproduzione, che differisce a seconda delle regioni. Il cibo consiste in pesci e zooplancton. Nel Mediterraneo la riproduzione ha luogo in primavera ed estate quando i pesci si concentrano a profondità attorno ai 150-200 m. Durante questa fase gli sgombri si nutrono prevalentemente di organismi planctonici.



Figura 3-9 *Scomber scombrus*.

Col progredire della stagione si disperdono nelle acque superficiali e si avvicinano anche alla costa dove predano altri pesci. In autunno e durante la stagione fredda si spostano sul fondo del mare ed in questa fase bentonctica si nutrono prevalentemente di organismi che vivono sui fondali. Il diametro delle uova è 0,87-1,40 mm e sono provviste di una grossa goccia oleosa; la larva si schiude dopo 5-6 giorni e può avere una lunghezza variabile da 2,82 a 4 mm. L'accrescimento è rapido. La lunghezza media a due anni di vita è 20 cm. La maturità viene raggiunta alla fine del terzo anno.

3.4.6. Tonno alletterato (*Euthynnus alletteratus*)

Euthynnus alletteratus (Rafinesque, 1810) (Figura 3-10), famiglia Scombridae, è una specie pelagica di taglia grande dal corpo robusto e fusiforme, con la coda assottigliata; la pelle è liscia, il dorso azzurro scuro, presenta strisce nere irregolari ed alcune macchie brune tondeggianti al di sopra delle pinne pettorali, il cui numero varia a seconda degli individui; la base dei fianchi ed il ventre sono di color argenteo. Le pinne dorsali sono quasi contigue, la prima è più lunga della seconda. Tra la seconda pinna dorsale e la coda si trovano 7-8 pinnule, alla base della pinna codale si può notare una carena mediana e due piccole carene laterali. Questa specie di Tunnide è gregaria, si riproduce in primavera-estate e si ciba di pesci (soprattutto Clupeidi, genere *Alosa* e *Clupeonella*), crostacei e cefalopodi. Può



Figura 3-10 *Euthynnus alletteratus*.

raggiungere lunghezza totale di 1 m e 12 Kg di peso, ma è più comune da 30 a 80 cm.

Il tonno alletterato è una specie pelagica, presente in tutto il Mediterraneo, in Adriatico, nel Mar Nero e nell'Atlantico orientale ed occidentale. Compie delle migrazioni legate al ciclo riproduttivo. Ama le acque calde, nelle quali si aggrega in banchi numerosi.

Il tonno alletterato viene catturato per mezzo di palangari derivanti, ami e reti a circuizione (tonnare volanti). Questo tipo di pesca in Italia è sviluppata in Adriatico e lungo la costa salernitana; le catture più abbondanti si hanno in primavera-estate nelle acque intorno alla Sicilia, nello Ionio e nel Basso Adriatico.

3.4.7. Vongola (*Chamelea gallina*)

La specie *Chamelea gallina* (Linnaeus, 1758) (Figura 3-11) appartiene alla famiglia Veneridae. Mollusco bivalve dalla conchiglia di medie dimensioni, rigonfia, con circa 80 anelli spirali senza coste radiali. Colore bianco, in genere con bande radiali marroni (Riedl, 1991). All'interno il colore delle valve è bianco o giallastro e la conchiglia è liscia. *Chamelea gallina*, come pure gli altri bivalvi, sono molluschi filtratori. È dotata di una cavità paleale all'interno della quale si sviluppa

la circolazione dell'acqua che entra dal sifone inalante, cede l'ossigeno e il nutrimento alla branchie, si carica di anidride carbonica, riceve i prodotti del metabolismo, i prodotti sessuali ed i residui della digestione, ed esce dal sifone esalante. Filtrando l'acqua dalle branchie le vongole riescono quindi a trattenere il nutrimento sotto forma di particellato organico: il materiale organico viene inglobato da una sostanza mucosa secreta dalla superficie branchiale e per mezzo del movimento ciliare è convogliato verso il margine ventrale e da qui trasportato verso i palpi labiali provvisti a loro volta di ciglia e cellule mucose. Il materiale più grossolano viene accumulato nella regione posteriore ed espulso sotto forma di pseudofeci, mentre la rimanente parte prosegue lungo l'apparato digerente, dal quale ciò che non viene assorbito risulta poi eliminato tramite le feci.

La taglia massima che raggiunge è 5 cm, ma le dimensioni degli individui commercializzati variano tra 2,5 cm e i 3,5 cm. La riproduzione avviene in primavera dopo il primo anno di vita: la larva che si sviluppa dopo la fecondazione esterna conduce vita planctonica per le prime due settimane, e poi si insedia sul fondo. *Chamelea gallina* vive infossata nei fondali sabbiosi o sabbio-fangosi della costa, lasciando sporgere solamente i sifoni. Vive aggregata in banchi, è presente in Mediterraneo, Mar Caspio e in Atlantico orientale; in Italia si trova soprattutto in Adriatico e nel basso e medio Tirreno. La vongola viene pescata in modo professionale da barche dotate di draga idraulica o turbosoffiante che penetra per alcuni centimetri nel fondo sabbioso, strascicando, cattura tutti gli organismi presenti in quello strato di sabbia. L'avanzamento della draga è facilitato da un getto d'acqua che sospende il sedimento man mano accumulato, mentre gli individui di *Chamelea gallina* rimangono

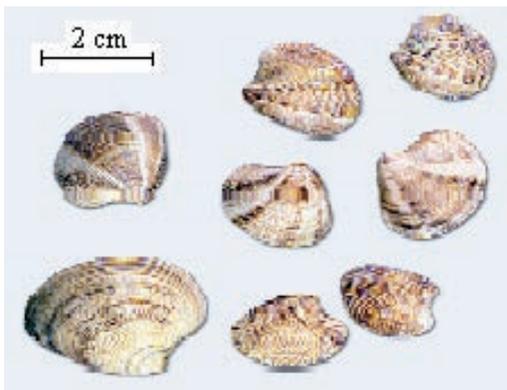


Figura 3-11 *Chamelea gallina*.

all'interno della griglia di metallo a forma di parallelepipedo. I consorzi di autogestione delle vongole regolano lo sforzo di pesca e l'entità di prelievo di questa risorsa.

3.4.8. Mitile (*Mytilus galloprovincialis*)

La specie *Mytilus galloprovincialis*, Lamarck, 1819 (Figura 3-12) appartiene alla famiglia Mytilidae. È un mollusco bivalve dalla forma allungata dotato di una conchiglia di color nero-violaceo; le valve sono bombate, uguali, di forma quasi triangolare e presentano sottili striature concentriche. All'interno il colore è viola-madreperlaceo e può variare in relazione al ciclo riproduttivo e al sesso. La colorazione della parte edibile degli individui maschili è bianco-giallastra, quella degli individui femminili tende al giallo-arancio. La parte del corpo di *Mytilus galloprovincialis* è molle, completamente rivestito dai lobi del mantello. In molti casi i bordi del mantello si prolungano formando dei sifoni uno di entrata dell'acqua (inalante) e uno di uscita (esalante). Il bordo presenta dei prolungamenti che, all'atto di apertura delle valve, s'intrecciano costituendo una sorta di filtro per evitare che penetrino al suo interno delle particelle di grandi dimensioni. In condizioni normali un mitilo di media dimensione, filtra all'incirca da 4 a 5 litri d'acqua all'ora, ed è in grado di trattenere il 90% delle particelle contenute in essa, sempre che rientrino nella gamma delle dimensioni filtrabili. Sono le ciglia laterali delle branchie che con il loro battito creano la corrente alimentare inalante. Il ritmo del battito, in un mitilo ad esempio, è di 2-5 pulsazioni al secondo, che possono arrivare fino a 20 pulsazioni in acque calde e povere di ossigeno. I mitili sono in grado di captare in modo assai efficiente le particelle con diametro compreso fra 2 e 5 μm . Questa gamma di misure comprende un gran numero



Figura 3-12 *Mytilus galloprovincialis*.

di batteri liberi (le cui dimensioni medie sono comprese tra 0,5-1 μm), particelle di argilla, organismi planctonici, larve e uova di un gran numero di specie, resti di organismi animali e vegetali. La riproduzione avviene a fine inverno e in autunno, quando le acque raggiungono i 15°C. Dal guscio escono filamenti bruni assai robusti, chiamati "bisso", mediante i quali l'animale si fissa alle rocce o ad altri sostegni. Le valve si chiudono grazie ad una cerniera che è un legamento elastico, stretto, allungato, di colore brunoastro. Il mitilo può raggiungere la lunghezza di 11 cm e oltre, ma di regola sui mercati lo si trova di 6 cm; l'accrescimento di *Mytilus galloprovincialis* è più rapido in Adriatico rispetto agli altri mari italiani. I mitili vivono in golfi e vicino alla costa in aggregati molto numerosi. È comune in Mediterraneo, Mar Nero e in Oceano Atlantico.

Mytilus galloprovincialis viene allevato e solo in piccola parte è pescato su banchi naturali; le tecniche di allevamento cambiano in relazione all'ambiente dove si opera: acque lagunari, stagni, aree di mare protetto e mare aperto.

La pesca avviene in modo professionale grazie ad operatori subacquei; il suo allevamento, la "mitilocoltura", viene invece praticato con diverse tecnologie in Adriatico, nello Ionio, nel Tirreno centro-settentrionale e nel Mar di Sardegna. Il valore nutrizionale

varia con le stagioni: come per *Chamelea gallina*, *Mytilus galloprovincialis* è relativamente ricco di zinco, ferro e magnesio.

I mitili sono anche definiti “bioindicatori” La loro utilità nelle attività di monitoraggio ambientale è ben riconosciuta. Gli organismi bioindicatori consentono di registrare il livello di contaminazione di un’area costiera con una misura “integrata nel tempo” e non legata al momento del prelievo, permettendo di rilevare gradienti spaziali e temporali dei livelli di inquinamento.

3.4.9. Paganello (*Gobius paganellus*)

Famiglia Gobiidae specie *Gobius paganellus* Linnaeus, 1758.

Corpo cilindrico, allungato e compresso lateralmente nella parte posteriore. Testa robusta, arrotondata, con muso corto e guance leggermente prominenti. Occhi sporgenti sul profilo dorsale. Bocca in posizione terminale, obliqua, con labbra carnose e mandibola protratta in avanti. Tentacoli nasali lobati. Papille sensoriali visibili ad occhio nudo. Pinne dorsali ravvicinate. Raggi della prima pinna dorsale mai prolungati in filamenti. Pinne pettorali ben sviluppate, con un ben distinto gruppo di raggi liberi superiori. Disco pelvico arrotondato, con membrana dotata di due lobi laterali. Tutte le pinne hanno il profilo del bordo arrotondato. La colorazione di fondo della livrea è bruno di varia intensità, leggermente sfumata verso il ventre, più chiaro. Il corpo è punteggiato da molte macchie scure irregolari, estese anche sulle pinne.

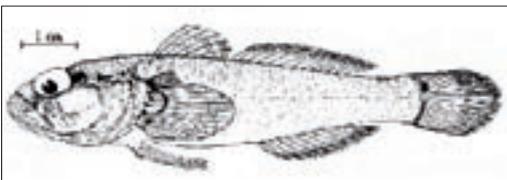


Figura 3-13 *Gobius paganellus*.

La prima pinna dorsale ha il bordo superiore biancastro, arancio o rosso, spesso è presente una macchia nera alla base del margine posteriore.

È un pesce comunissimo nel mare Adriatico. Si trova inoltre nel Mediterraneo, mar Nero e Atlantico dalle isole Britanniche al Senegal forse fino alle Azzorre. Specie euriterma e euralina, in grado di vivere sia in acque sovrasalate, come le pozze di marea, sia in acque salmastre, come le foci dei fiumi e le lagune. La presenza nelle acque interne è maggiore nei mesi più caldi dell’anno. Vive in mare a piccole profondità su fondi rocciosi o arenosi. Il paganello è stanziale e non ha istinto gregario, i singoli individui tendono a stabilirsi in territori propri che difendono dagli intrusi. Nel Mediterraneo si riproduce fra gennaio e giugno. Le uova di forma appuntita hanno grandezza variabile e la larva alla schiusa misura circa 5 mm.

La dieta è marcatamente carnivora e comprende vari invertebrati di fondo. Gli esemplari di taglia maggiore si nutrono in larga parte di crostacei, anellidi e piccoli pesci mentre gli avannotti predano organismi planctonici.

La specie viene predata da pesci ed uccelli ittiofagi.

3.5. Monitoraggio, prelievo e trattamento dei campioni

I campioni sono stati raccolti in maggio-giugno e ottobre-novembre dell’anno 2003. I pesci (alici, sardine, sgombri, paganelli e tonno alletterato campionato solo al tempo I) sono stati acquistati dai pescherecci che hanno garantito la provenienza locale ovvero del tratto di mare di fronte a Cesenatico. Per quanto riguarda i molluschi, le vongole sono state trovate con le stesse modalità e i mitili prelevati da un allevamento po-

sto a circa 8 chilometri dalla costa (Figura 3-1). I prelievi di zooplancton e fitoplancton sono stati effettuati con appositi retini utilizzando il Battello Oceanografico Daphne II nella zona antistante Cesenatico. Per la raccolta di zooplancton (Zunini Sertorio NOVA THALASSIA, 1990) è stato impiegato un retino con rete standardizzata WP-2 diametro 57 cm lunghezza totale 260 cm di garza di nylon con maglie di dimensioni 200 µm e munito di flussometro.

Il retino è stato trainato orizzontalmente ad una velocità inferiore a tre nodi. Il campione raccolto in bottiglia è stato portato in laboratorio, centrifugato a bassa velocità e dopo eliminazione dell'acqua surnatante, asciugato su carta da filtro assorbente, pesato, congelato a -20°C e quindi liofilizzato. Per il prelievo di fitoplancton è stato impiegato un retino con maglie di dimensioni 20 µm e munito di flussometro.

Il campione è stato poi trattato allo stesso modo dello zooplancton tranne che per il passaggio su carta assorbente non possibile per la scarsità del materiale (Figura 3-14). Per ogni campione di pesce e molluschi, in entrambi i tempi per l'analisi dei metalli pesanti, sono stati scelti 10 individui in modo casuale. Sono stati registrati lunghezza e peso di ogni esemplare per poter eventual-

mente fare considerazioni sulla taglia. *Mytilus galloprovincialis* e *Chamelea gallina* sono stati analizzati in toto-parte edule. Nei pesci si è proceduto a separare i singoli tessuti: gonadi, muscolo, scheletro, organi interni e branchie. Posti in idoneo contenitore si è proseguito con la liofilizzazione. Prima e dopo tale processo sono state effettuate le relative pesate per la determinazione di peso fresco e peso secco.

L'analisi dei microinquinanti organici è stata eseguita su un pool di muscolo cercando di omogeneizzare un'aliquota più rappresentativa possibile della parte edibile di ogni pesce e mollusco a disposizione. Per le determinazioni su zooplancton e fitoplancton si sono raggruppati diversi prelievi allo scopo di raggiungere una significativa quantità in grammi. I campioni pesati con bilancia analitica sono stati poi congelati a -20°C e liofilizzati (Figura 3-14, Figura 3-15 e Figura 3-16).

La tecnica della liofilizzazione impiegata su tutti i campioni presenta il vantaggio di ottenere un prodotto essiccato e facilmente conservabile senza alterarne la composizione. Dal punto di vista analitico l'eliminazione dell'acqua dal campione rende più efficiente sia la fase di estrazione con solventi organici che la mineralizzazione per i metalli.



Mytilus galloprovincialis.



Chamelea gallina.

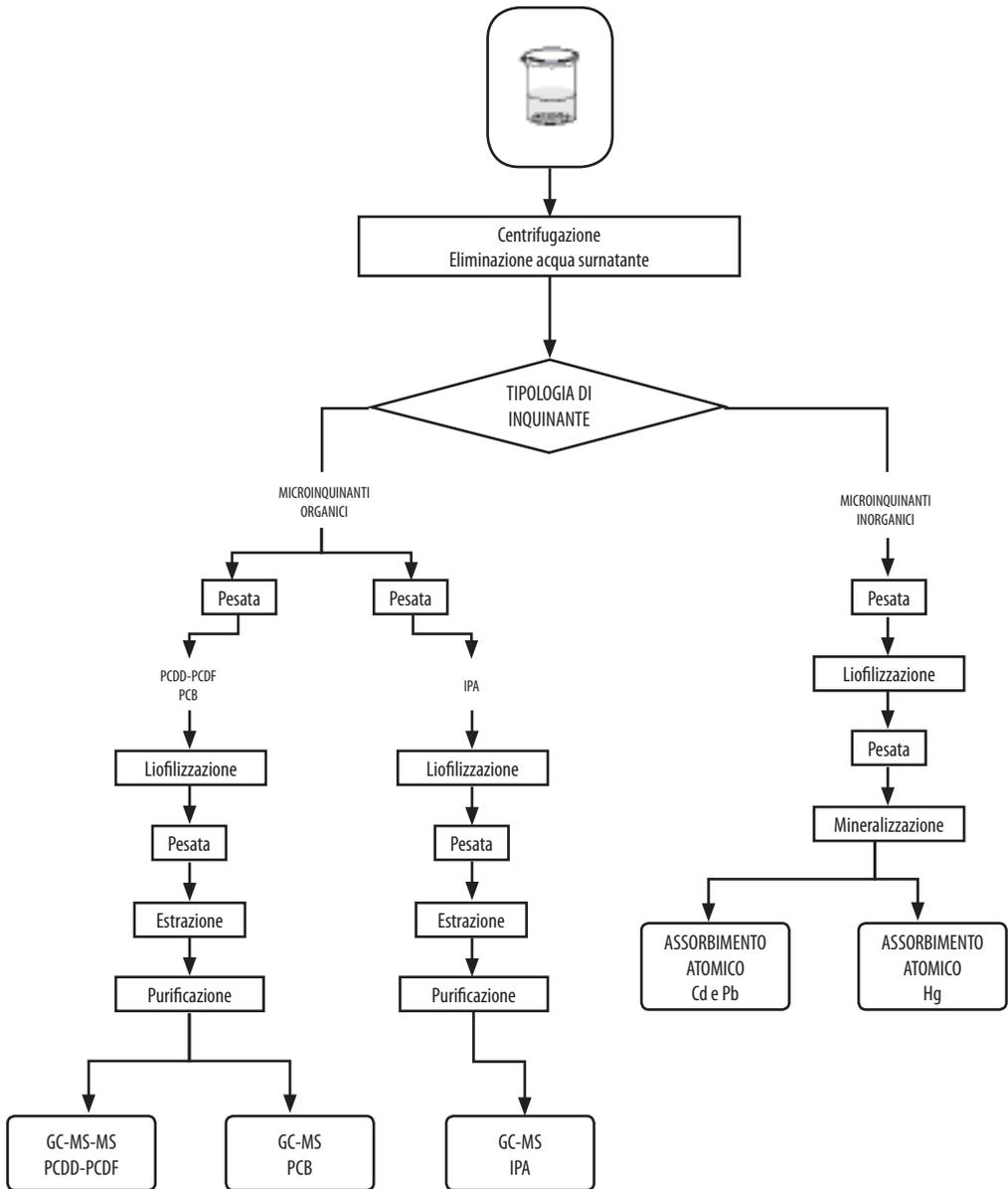


Figura 3-14 Trattamento dei campioni di fitoplancton e zooplancton per entrambi i tempi T1 e T2.

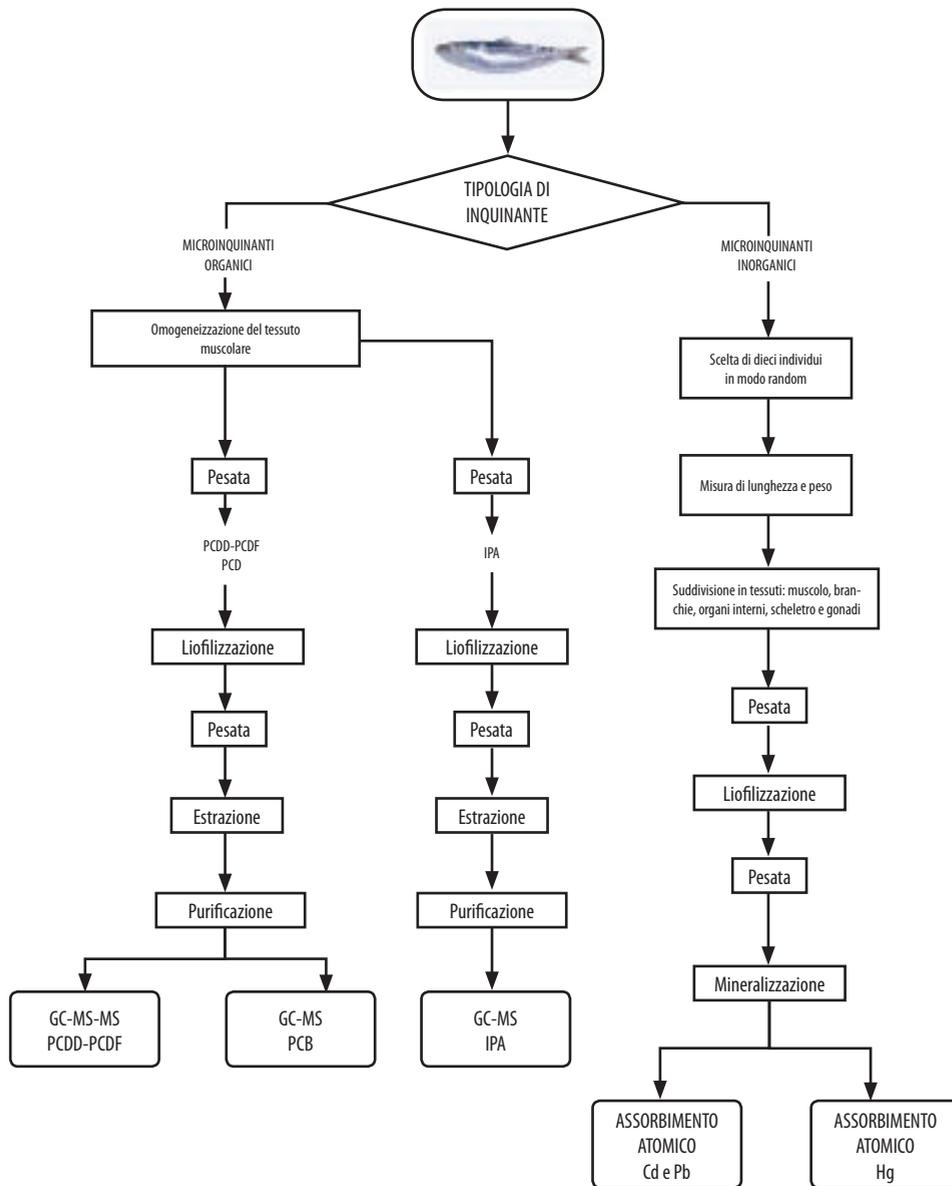


Figura 3-15 Trattamento delle specie di pesce analizzate per entrambi i tempi T1 e T2.

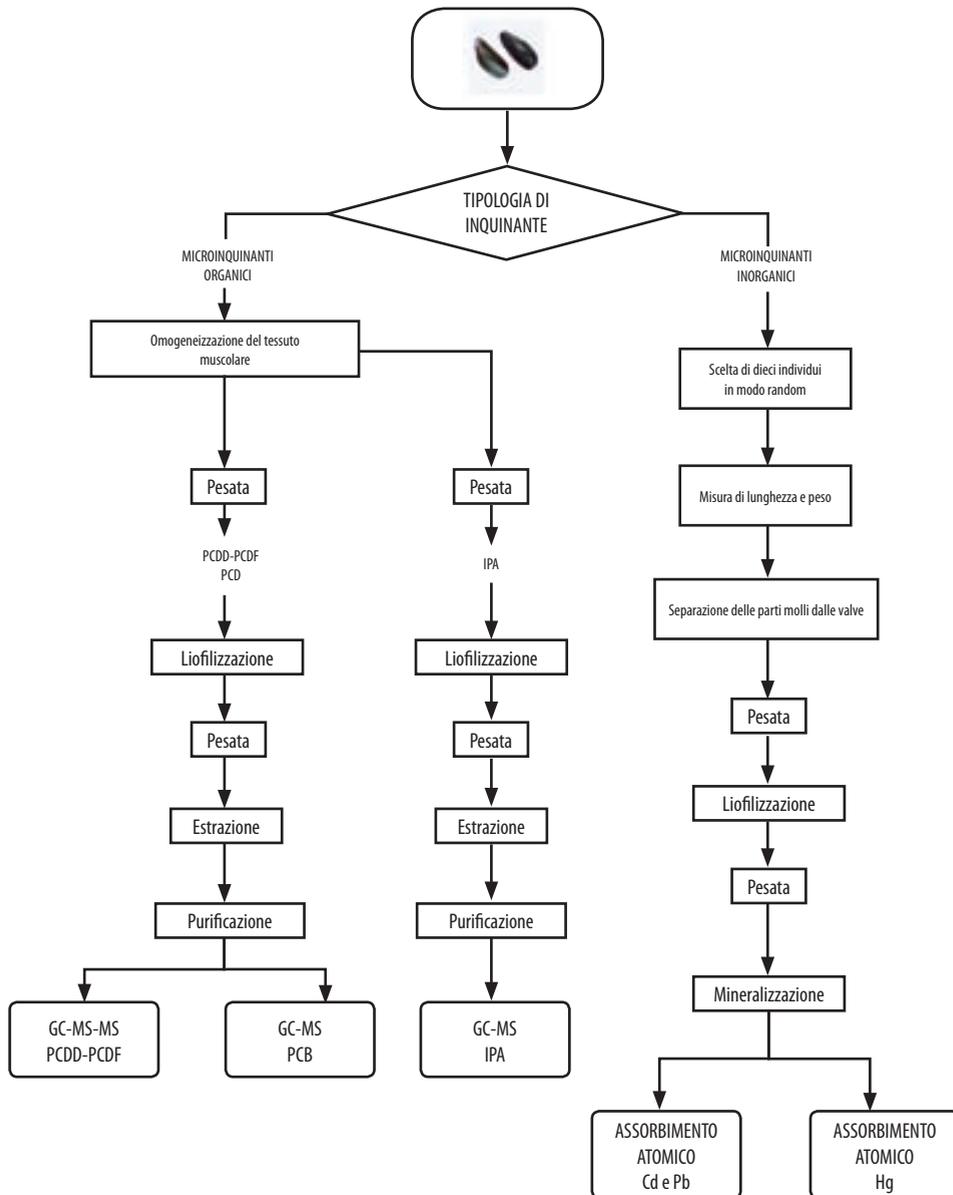


Figura 3-16 Trattamento dei molluschi bivalvi analizzati per entrambi i tempi di indagine T1 e T2.

4. Microinquinanti inorganici

4.1. Metalli

4.1.1. Cadmio

Il cadmio, pur essendo un elemento ubiquitario sulla crosta terrestre, è normalmente presente in bassissime quantità. In acqua di mare la sua concentrazione varia fra 5 e 26 ng/l (OSPAR, 2000). Per i mitili viene considerato un valore di fondo di 0.1 mg/Kg peso fresco (OSPAR, 1999).

Accompagna come impurezza altri metalli, soprattutto lo zinco. Nonostante ciò il ciclo biogeochimico dell'elemento e gli equilibri nei diversi ecosistemi sono fragili: deboli variazioni nei flussi possono avere ripercussioni importanti come il possibile trasferimento dell'inquinamento nelle derrate di origine vegetale e animale. La presenza ambientale del metallo è andata progressivamente aumentando negli ultimi anni in conseguenza delle sue molteplici applicazioni. La contaminazione da cadmio deriva principalmente dagli scarichi dell'industria dello zinco e della galvanoplastica, dagli scarichi delle industrie delle vernici e smalti, dagli inceneritori dei rifiuti e dall'impiego dei concimi fosfatici spesso contaminati. L'impiego nell'industria della plastica, nella produzione di leghe, di coloranti e di batterie accresce la possibile contaminazione globale.

Negli ultimi tempi numerose ricerche hanno attestato un progressivo aumento del carico di cadmio nell'organismo umano (Ghidini *et al.*, 2000) e si pensa che questa evoluzione derivi dall'inquinamento atmosferico e dell'acqua, dalla contaminazione degli alimenti, dal fumo di sigaretta.

In ambiente acquatico il cadmio viene accumulato da organismi vegetali quali fitoplancton e macrofite e trasferito a specie animali in cui tende a concentrarsi. Gli invertebrati marini presentano un fattore di concentrazione rispetto all'acqua da 300

fino a 10.000 volte (Ghidini *et al.*, 2000). Nei pesci i fattori di accumulo sono più bassi ed il cadmio si concentra specialmente nel rene, mentre le parti muscolari sono generalmente poco contaminate dall'elemento (da 200 fino a 700 volte rispetto all'acqua).

4.1.2. Piombo

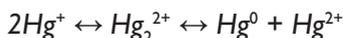
Il piombo è un elemento tossico e non essenziale, disperso nell'ambiente prevalentemente attraverso il trasporto atmosferico, presenta picchi di contaminazione in aree industriali o in prossimità di centri urbani. In area rurale la contaminazione è compresa fra 0,05 e 0,1 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (Green *et al.*, 2003) mentre il contenuto naturale in atmosfera è stimato nell'ordine di 0,006 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (Green *et al.*, 2003). Il piombo inorganico si trova nell'acqua allo stato di ossidazione +2 e la sua concentrazione naturale in acqua di mare varia considerevolmente fra zone costiere e oceano andando da 100 a 30 ng/l (OSPAR, 1996) rispettivamente. Per i mitili si considera una concentrazione di background di 0.2 mg/Kg di peso fresco (OSPAR, 1999).

In natura è poco abbondante infatti rappresenta solo lo 0,002 % in peso della crosta terrestre e si trova spesso associato ad altri metalli come zinco, cadmio, argento e rame. Viene rilasciato dalla superficie terrestre attraverso i fenomeni di weathering delle rocce, attività vulcanica e assorbimento con conseguente rilascio da parte delle piante. La contaminazione delle acque può derivare anche dalla presenza in determinate zone di rocce calcaree contenenti Pb e galena (PbS). Il piombo ha un gran numero di applicazioni industriali (vernici, cavi elettrici, cavi telefonici, lega per saldature ecc.) ma l'utilizzo principale è quello delle batterie dei mezzi di trasporto. Non sono poi da trascurare le migliaia di tonnellate di piombo tetraetile che sono state impiegate nelle benzine (Green *et al.*, 2003).

4.1.3. Mercurio

Il mercurio è un metallo la cui presenza nell'ambiente è sia di origine naturale che antropica. La concentrazione naturale in acque estuarine e di ambiente marino costiero è circa 20 ng/l mentre come concentrazione di fondo per i mitili si considera un valore pari a 0,01 mg/Kg di peso fresco (OSPAR, 1999).

La sua solubilità in acqua è pari a 0,28 $\mu\text{mol/l}$ (56,2 $\mu\text{g/l}$) a 25°C, ma la saturazione è difficilmente raggiungibile poiché il mercurio elementare è molto volatile. Se non vi fosse speciazione, cioè la trasformazione del mercurio elementare in forme più solubili in acqua, le concentrazioni di mercurio nell'acqua sarebbero estremamente basse, molto al disotto di quanto si osserva in realtà. In soluzione acquosa il mercurio esiste contemporaneamente in tutti e tre gli stati di ossidazione (Hg^0 , Hg^{2+} e Hg_2^{2+}) e le diverse forme sono in equilibrio secondo la seguente reazione:



Il catione Hg^{2+} è più stabile di Hg_2^{2+} ed è generalmente associato a molecole inorganiche quali solfuri (nel cinabro), cloruri (cloruro mercurico), ossigeno e ioni ossidrili. Hg^{2+} si trova anche all'interno di composti organici sotto forma di dimetilmercurio, $\text{Hg}(\text{CH}_3)_2$. Il processo di formazione di quest'ultimo avviene nei sedimenti fangosi, soprattutto in presenza di condizioni anaerobiche, quando i batteri anaerobi trasformano Hg^{2+} in $\text{Hg}(\text{CH}_3)_2$. I composti meno volatili CH_3HgCl e CH_3HgOH spesso indicati complessivamente come CH_3HgX o come ione CH_3Hg^+ (denominato metilmercurio), si formano con le stesse modalità del dimetilmercurio e persino più rapidamente. In acqua di mare e nelle acque dolci acide il cloruro è la forma più rilevante.

La specie chimica più attiva dal punto di vista biologico è lo ione CH_3Hg^+ che presenta la capacità di legarsi in modo abbastanza stabile a complessi organici ed in particolare a gruppi tiolici di amminoacidi e proteine, dando luogo a fenomeni di bioconcentrazione (Camusso e Borsani, 2004).

La metilazione (formazione di metilmercurio) in ambiente marino, avviene negli strati superiori dei sedimenti ad opera di un agente metilante; metilcobalammina che è un analogo della vitamina B12 e dipende da fattori fisici e chimici come pH, % di ossigeno e temperatura. Si pensa che i batteri che sintetizzano il metano producano la metilcobalammina come intermedio di sintesi. Così in acque in cui si realizza la decomposizione anaerobica si creano le condizioni che permettono la produzione di metilmercurio. In acque neutre o alcaline è favorita la formazione di dimetilmercurio. Questo composto estremamente volatile può disperdersi nell'atmosfera (Manahan, 2000) a meno che non si trasformi in monometile (reazione che dipende dal pH dell'ambiente).

Il mercurio viene accumulato principalmente nel fegato e nel rene.

Le specie ittiche eliminano molto lentamente il mercurio assorbito. I tempi di dimezzamento del metilmercurio, se gli organismi marini vengono spostati in aree non contaminate, vanno da sei mesi per mitili a due anni per il luccio (Cubadda *et al.*, 1998). Circa il 90% del mercurio presente nei pesci si trova sotto forma di metilmercurio. I pesci del Mediterraneo rispetto a quelli dell'Atlantico manifestano i livelli più elevati. Questo è stato spiegato con la presenza di formazioni geologiche ricche di mercurio. In alcune aree marine mediterranee inoltre, le particolari condizioni di pH e di scarso ricambio di ossigeno determinano produzione di metilmercurio, che sono la

principale sorgente di contaminazione dei pesci di altura (Cubadda *et al.*, 1998).

L'erosione naturale della crosta terrestre e l'attività vulcanica liberano la parte più consistente di mercurio (le rocce continentali contengono in media 80 µg/Kg di mercurio e il più importante minerale di questo elemento è il cinabro, solfuro di mercurio). Il Mediterraneo è al centro di un'area sede del 65% delle risorse mondiali dell'elemento. Tra le fonti antropiche si ricordano gli inceneritori, le fonderie, gli impianti di combustione di carbone (i carboni e le ligniti contengono fino a 100 µg/Kg di mercurio). Gli effluenti che possono contenere elevati quantitativi di mercurio sono quelli dell'industria cartiera e degli impianti cloro-soda anche se negli ultimi decenni si è cercato di limitare la contaminazione consentendo la lavorazione soltanto a ciclo chiuso. Negli ultimi anni l'utilizzo industriale del mercurio è stato notevolmente ridotto anche a causa della contaminazione provocata lungo la catena alimentare: la sua riduzione si è avuta ad esempio nelle apparecchiature elettriche, nelle batterie, negli amalgami dentari e in farmacologia. Sono stati invece completamente banditi gli utilizzi agricoli del metallo (fenildimetilditiocarbammato di mercurio e cloruro di etilmercurio). La sua presenza nell'ambiente, tuttavia, è stazionaria per l'alta persistenza nelle precipitazioni atmosferiche e nei sedimenti marini. È stato calcolato che il 5% del mercurio apportato annualmente nel Mediterraneo si ritrova nel pesce.

4.2. Determinazioni analitiche

4.2.1. Strumentazione

Per le determinazioni analitiche dei metalli sono state utilizzate le seguenti strumentazioni:

- spettrofotometro di assorbimento atomico Perkin Elmer mod. 3030, provvisto di fornello di grafite pirolitico con piastrina di L'Vov, di lampada a catodo cavo al cadmio e al piombo, di correttore di assorbimento non specifico ad effetto Zeeman e di autocampionatore;
- spettrofotometro di assorbimento atomico Perkin Elmer mod. 2280 dotato di: cella con finestre di quarzo lunga 100 mm ed avente diametro di 20 mm; lampada a catodo cavo al mercurio; dispositivo per la riduzione del mercurio e trascinarsi dei vapori, costituito da un sistema chiuso di gorgogliamento e da una pompa peristaltica per la generazione della corrente d'aria;
- digestore a microonde Milestone MLS-1200 MEGA con rotore MDR 1000/6/100/110;
- liofilizzatore HETOSICC Free Dryer Type CD 53-I.

4.2.2. Metodi

Cadmio e piombo:
determinazione spettrofotometrica previa mineralizzazione per via umida tramite sistema a microonde.

Mercurio:
D.M. 31/07/1995; G.U. n.279 del 29/11/1995
D.M. 14/12/1971; G.U. n.328 del 28/12/1971
Ghidini *et al.* (2000) "Livelli ed evoluzione di cadmio, mercurio e arsenico nei pesci dell'Alto Adriatico".

I campioni liofilizzati vengono polverizzati e pesati (200 mg) dentro al contenitore del digestore. Con l'aggiunta di 2 ml di acido nitrico 65% puro per analisi di metalli in tracce e 0,5 ml di acqua ossigenata al 30% si esegue la mineralizzazione per via umida tramite sistema a microonde in pressione.

	1° step	2° step	3° step	4° step	5° step
power	250 W	0 W	250 W	400 W	600 W
time	2 minuti	2 minuti	5 minuti	5 minuti	5 minuti

Tabella 4-1 Programma di digestione applicato al forno a microonde.

La Tabella 4-1 riporta il programma di digestione. Il campione mineralizzato, portato a volume (10 ml) con acqua bidistillata viene sottoposto alla lettura strumentale. Cadmio e Piombo vengono analizzati con spettrofotometria di assorbimento atomico con fornetto di grafite mentre il mercurio con spettrofotometro a vapori freddi.

Cadmio

Reagenti:

- acido nitrico 65% puro per analisi di metalli in tracce
- acqua ossigenata 30%
- modificante di matrice: 2 g di ammonio fosfato monobasico ((NH₄)H₂PO₄) e 0,2 g di nitrato di magnesio Mg(NO₃)₂ in 100 ml di acqua bidistillata
- cadmio soluzione 1000 mg/l da diluire opportunamente.

Parametri dello spettrofotometro:

- misura strumentale: assorbanza
- modo di misura: area di picco
- sorgente: lampada a catodo cavo al cadmio
- fenditura: 0,7 nm

- lunghezza d'onda: 228,8 nm
- introduzione del campione: campionatore automatico
- tempo di misura durante l'atomizzazione: 5 sec
- correttore di fondo: inserito durante l'atomizzazione
- fornetti di grafite pirolitici con piattaforma
- parametri di programmata termica (Tabella 4-2)

Ogni misura viene effettuata iniettando nel fornetto di grafite 20 µl di bianco o di campione, e 10 µl di modificante di matrice. Le interferenze sono eliminate mediante l'impiego di opportuno modificante di matrice e di un correttore ad effetto Zeeman.

La lettura delle assorbanze dei campioni viene eseguita azzerando lo strumento sul valore di assorbanza del bianco che viene accettato fino ad un valore di assorbanza di 0,050 unit. Assor. In caso di bianco inquinato viene ripetuta tutta la prova. Le concentrazioni delle soluzioni dei campioni sono calcolate rispetto ad una curva di calibrazione costruita su 4 punti. Le concentrazioni

Stadio numero	Temperatura fornetto (°C)	Tempo rampa (sec)	Tempo isoterma (sec)	Flusso gas (ml/min)
1	100	1	3	300
2	200	20	20	300
3	900	20	20	300
4	1600	0	5	0
5	2500	1	3	300

Tabella 4-2 Parametri di programmata termica e flusso di gas argon, relativo al metodo per la determinazione di Cadmio, pertinenti allo Spettrofotometro di assorbimento atomico Perkin Elmer.

ni delle soluzioni standard hanno i seguenti valori; 0,00-2,00-4,00 e 10,00 µg/l. Poiché lo spettrofotometro è provvisto di software applicativo la concentrazione di cadmio nel campione viene restituita direttamente dallo strumento.

I risultati sono espressi in mg/kg ed il limite di rilevabilità dell'analisi equivale a 0,004 mg/Kg.

Piombo

Reagenti:

- acido nitrico 65% puro per analisi di metalli in tracce
- acqua ossigenata 30%
- modificante di matrice: 2 g di ammonio fosfato monobasico ((NH₄)H₂PO₄) e 0,2 g di nitrato di magnesio Mg(NO₃)₂ in 100 ml di acqua bidistillata
- piombo soluzione 1000 mg/l da diluire opportunamente

Parametri dello spettrofotometro:

- misura strumentale: assorbanza
- modo di misura: area di picco
- sorgente: lampada a catodo cavo al piombo
- fenditura: 0,7 nm
- lunghezza d'onda: 283,3 nm
- introduzione del campione: campionatore automatico

- tempo di misura durante l'atomizzazione: 5 sec
- correttore di fondo: inserito durante l'atomizzazione
- fornetti di grafite pirolitici con piattaforma
- parametri programmata termica (Tabella 4-3)

Ogni misura viene effettuata iniettando nel fornello di grafite 20 µl di bianco o di campione, e 10 µl di modificante di matrice. Le interferenze sono eliminate mediante l'impiego di opportuno modificante di matrice e di un correttore ad effetto Zeeman.

La lettura delle assorbanze dei campioni viene eseguita azzerando lo strumento sul valore di assorbanza del bianco che viene accettato fino ad un valore di assorbanza di 0,050 unit. Assor. In caso di bianco inquinato viene ripetuta tutta la prova. Le concentrazioni delle soluzioni dei campioni sono calcolate rispetto ad una curva di calibrazione costruita su 4 punti. Le concentrazioni delle soluzioni standard hanno i seguenti valori; 0,00-20,00-40,00 e 60,00 µg/l. Poiché lo spettrofotometro è provvisto di software applicativo la concentrazione di piombo nel campione viene restituita direttamente dallo strumento.

Stadio numero	Temperatura fornello (°C)	Tempo rampa (sec)	Tempo isoterma (sec)	Flusso gas (ml/min)
1	100	1	5	300
2	150	15	10	300
3	200	15	20	300
4	900	20	20	300
5	1800	0	5	0
6	2600	1	3	300

Tabella 4-3 Parametri di programmata termica e flusso di gas Argon, relativo al metodo per la determinazione di Piombo, pertinenti allo Spettrofotometro di assorbimento atomico Perkin Elmer.

I risultati sono espressi in mg/kg ed il limite di rilevabilità strumentale equivale a 0,10 mg/Kg.

Mercurio

Reagenti:

- acido nitrico 65% puro per analisi di metalli in tracce
- acqua ossigenata 30%
- mercurio soluzione 1000 mg/l da diluire opportunamente
- soluzione di cloridrato di idrossilammina: 12 g di cloruro di sodio e 12 g di cloridrato di idrossilammina portati a 100 ml con acqua bidistillata
- soluzione di cloruro stannoso: 10,0 g di cloruro stannoso portati a 100 ml con acido solforico 1 N

Il metodo per la determinazione del mercurio totale, si basa sulla spettrofotometria di assorbimento atomico.

Dopo la mineralizzazione lo ione mercurio viene ridotto allo stato metallico con cloruro stannoso ed estratto dalla soluzione con una corrente d'aria. I vapori di mercurio trascinati dall'aria vengono fatti passare in una cella di quarzo posta sul cammino

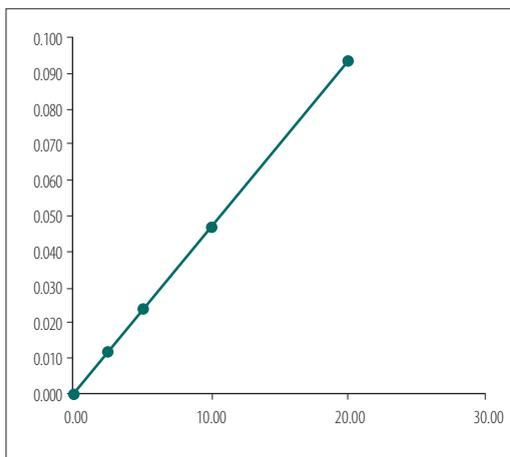


Figura 4-1 Retta di calibrazione, relativa alla determinazione del mercurio, costruita su 5 concentrazioni note equivalenti a 0,00-2,50-5,00-10,00 e 20,00 µg/l.

ottico di uno spettrofotometro di assorbimento atomico regolato a 253,7 nm ; dal valore di assorbanza massimo misurato si calcola la concentrazione del mercurio. Per la determinazione quantitativa si procede alla costruzione di una retta di calibrazione (Figura 4-1) partendo da 5 punti (con concentrazione rispettivamente 0,00-2,50-5,00-10,00-20,00 µg/l).

L'aliquota da sottoporre ad analisi viene posta con una pipetta tarata da 5,00 ml nel palloncino del gorgogliatore, si aggiungono con pipetta automatica 0,5 ml di soluzione di cloridrato di idrossilammina e si innesta il palloncino nell'apparecchio per la lettura. Dall'imbuto di carico viene introdotto 1 ml di soluzione di cloruro stannoso e si avvia immediatamente il passaggio del flusso d'aria. Si segue sullo spettrofotometro, preventivamente azzerato, l'andamento dell'assorbanza, e si registra per ogni misura il valore massimo raggiunto. Le operazioni di registrazione dei dati sono tutte manuali in quanto lo strumento in dotazione è sprovvisto di software. Pertanto le concentrazioni relative ai campioni sono calcolate in base alla retta di calibrazione (Figura 4-1).

Il bianco si considera accettato fino ad un valore di assorbanza di 0,010 unit. Assor. In caso di bianco inquinato si ripete tutta la prova.

I risultati sono espressi in mg/kg ed il limite di rilevabilità strumentale equivale a 0,03 mg/Kg.

4.3. Elaborazione statistica

4.3.1. Analisi univariata

Le differenze di concentrazione dei tre metalli sono state testate mediante analisi della varianza a 2 vie. I fattori analizzati sono:

- specie (4 livelli, fisso) e tempo (2 livelli, random, ortogonale);

- tessuto (4 livelli, fisso) e tempo (2 livelli, random, ortogonale);
- taxa (8 livelli, fisso) e tempo (2 livelli, random, ortogonale).

L'omogeneità delle varianze è stata testata mediante test di Cochran. Nei casi di significatività dei test sono state applicate le opportune trasformazioni (logaritmica, radice quadrata, doppia radice quadrata) seguendo la logica riportata in Underwood (1997).

Il test SNK è stato utilizzato per individuare eventuali trend nella distribuzione delle medie.

4.3.2. Analisi multivariata

L'analisi multivariata permette di visualizzare il livello di similarità fra i campioni calcolato in base alle concentrazioni medie dei tre metalli presenti negli otto diversi taxa per due tempi di indagine. Solo per i pesci è presa in esame anche la suddivisione in cinque tessuti.

Mediante ordinamento nMDS (non metric multidimensional scaling) sono state prodotti grafici bidimensionali in cui le medie delle concentrazioni dei metalli rilevate sono distribuite sul piano in base al grado di similarità (Clarke 1993). Le distanze fra i punti sono proporzionali alle dissimilarità. La matrice di similarità fra coppie di campioni è stata calcolata mediante indice di similarità Bray-Curtis (Bray e Curtis 1957). I dati sono stati predisposti per l'analisi nMDS tramite trasformazione della radice quarta allo scopo di ridurre le differenze di scala fra variabili senza perdita di informazioni fra abbondanze relative per dieci repliche.

4.4. Risultati

I dati analitici sono relativi allo screening di alcuni inquinanti inorganici in specie appartenenti a differenti livelli della rete trofica dell'Alto Adriatico. L'indagine è relativa all'anno 2003, nel quale sono collocati i due tempi di prelievo (1 e 2), rispettivamente nei mesi di maggio-giugno, ottobre-novembre. La replicazione temporale del campionamento ha permesso di apprezzare la presenza di variabilità temporale nella concentrazione di inquinanti che può essere attribuita a variazioni dello stato degli organismi o a modifiche dell'ambiente abiotico.

L'analisi di diverse specie, alcune con abitudini bentoniche altre pelagiche, e di numerosi tipi di inquinanti ha permesso di apprezzare le differenze di bioaccumulo nelle diverse specie e l'esistenza o meno di rischi di tipo tossicologico in relazione ai limiti posti dalla legislazione vigente.

Per una lettura corretta dei dati relativi ai metalli, e per meglio confrontarsi con lavori di altri autori tutti i valori sono stati riferiti al peso secco (mg/Kg). Infatti ogni qualvolta devono essere confrontati dati provenienti da studi diversi, un paragone basato solo su valori in peso fresco può risultare fuorviante in quanto il contenuto di acqua nei pesci è relativamente poco variabile, ma nel caso degli invertebrati tale contenuto risente di una serie di fattori di natura diversa, legati da un lato all' habitat dell'organismo e alla condizione vitale dello stesso, dall' altro al trattamento e alla conservazione del campione prima della pesata. Pertanto le concentrazioni espresse sulla base del peso secco sono state ritenute più corrette.

4.4.1. Ripartizione dei metalli nei tessuti

Di seguito sono riportati, per ogni metallo considerato, gli istogrammi delle concentrazioni nelle varie specie per ogni tessuto e le tabelle relative all'analisi della varianza.

Branchie

La concentrazione di cadmio nelle branchie delle quattro specie analizzate è risultata molto variabile (Figura 4-2). In particolare si osserva come al tempo 1 *Sardina pilchardus* presenta valori di un ordine di grandezza superiore alle altre specie, mentre *Engraulis encrasicolus*, *Scomber scombrus* e *Gobius paganellus* non presentano differenze rilevanti fra i due tempi.

Questo risultato è confermato dall'analisi della varianza da cui risulta essere significativa l'interazione tempo e specie (Tabella 4-4).

In base all'analisi SNK si ha al tempo 1;

T1: *S. pilchardus* > *E. encrasicolus* = *S. scombrus* > *G. Paganellus*

T2: *E. Encrasicolus* > *G. paganellus* = *S. Pilchardus* = *S. scombrus*

La concentrazione di piombo nelle branchie delle quattro specie analizzate si attesta su valori piuttosto elevati ma non dissimili fra loro (Figura 4-3).

L'analisi della varianza mostra un'interazione significativa specie e tempo (Tabella 4-5). Al tempo 1 *Sardina pilchardus* si differenzia dalle altre specie per la maggiore concentrazione di piombo (8,36 mg/Kg). Mentre al tempo 2 l'analisi SNK non fornisce ipotesi alternative, in quanto le specie non si differenziano una dall'altra.

T1: *S. pilchardus* > *E. encrasicolus* = *S. Scombrus* = *G. Paganellus*

T2: *E. Encrasicolus* = *G. paganellus* = *S. Pilchardus* = *S. Scombrus*

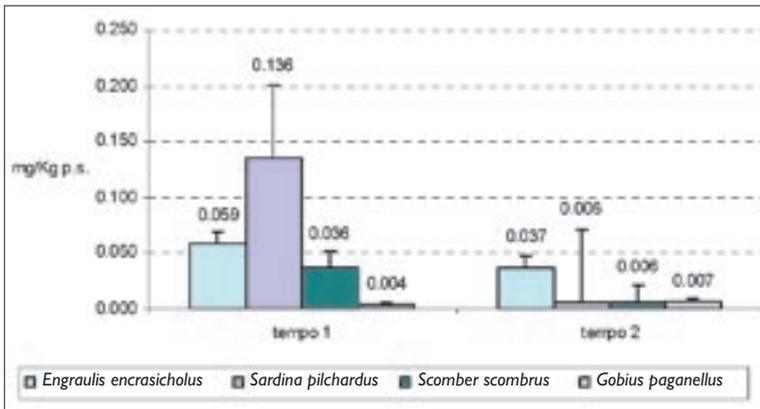


Figura 4-2 Concentrazione media (±E.S.) di Cd nelle branchie delle 4 specie ittiche analizzate nei due tempi. (T1 eT2).

4 specieX 2tempiX branchieXCd				
Fonte di variabilità	Gradi di libertà (g.l.)	Scarto quadratico medio	F	p
Specie (sp)	3	0,1338	1,33	n.s.
Tempo (te)	1	0,2702	42,04	*
spXte	3	0,1006	15,65	*
Residuo	72	0,0064		

Tabella 4-4 Analisi della varianza per la concentrazione di Cd nelle branchie delle 4 specie ittiche analizzate (*=p<0.05, n.s.=non significativo)

La concentrazione di mercurio nelle branchie delle quattro specie ittiche analizzate è risultata molto omogenea. Si osservano concentrazioni mediamente più alte al tempo 1 rispetto al tempo 2 (Figura 4-4).

Questo risultato è confermato dall'analisi della varianza (Tabella 4-6) da cui risultano essere significative e consistenti le differenze fra i 2 tempi per tutte le specie.

Tessuto muscolare

La concentrazione di cadmio nel tessuto muscolare delle quattro specie ittiche analizzate è risultata variabile, tuttavia non si evidenziano differenze consistenti in funzione dei fattori considerati (Figura 4-5). A conferma di questo, l'analisi della varianza non mostra variazioni significative (Tabella 4-7).

Le concentrazioni di piombo nel tessuto muscolare delle quattro specie analizzate

varia principalmente nelle specie *Engraulis encrasicolus* e *Sardina pilchardus* (Figura 4-6). Infatti al tempo 1, *Sardina pilchardus* presenta le concentrazioni più elevate (0,49 mg/Kg) e al tempo 2, la media di concentrazione più alta è relativa a *Engraulis encrasicolus* (0,42 mg/Kg).

Dall'analisi della varianza risulta essere significativa l'interazione tempo e specie (Tabella 4-8) e l'analisi SNK mostra le seguenti relazioni;

T1: *S. pilchardus* > *G. Paganellus* = *E. encrasicolus* = *S. scombrus*

T2: *E. encrasicolus* > *G. paganellus* = *S. pilchardus* = *S. scombrus*

Scomber scombrus presenta in entrambi i tempi le concentrazioni di mercurio più elevate nel tessuto muscolare fra le quattro specie analizzate (Figura 4-7). Le altre specie presentano valori più omogenei.

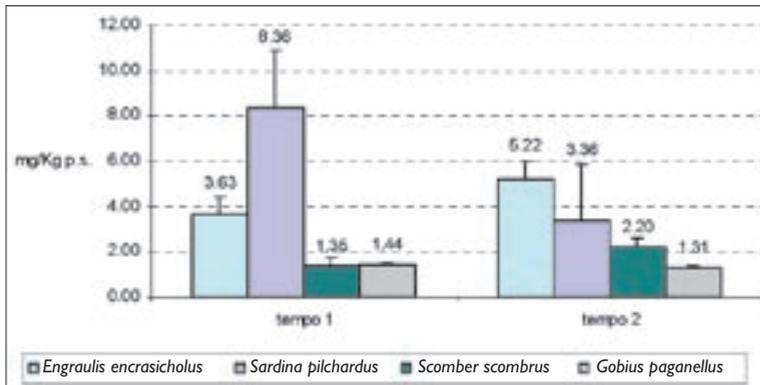


Figura 4-3 Concentrazione media (±E.S.) di Pb nelle branchie delle 4 specie ittiche analizzate nei due tempi.

4 specie X 2 tempi X branchie X Pb				
Fonte di variabilità	Gradi di libertà (g.l.)	Scarto quadratico medio	F	p
Specie (sp)	3	0,8008	2,78	n.s.
Tempo (te)	1	0,0104	0,14	n.s.
sp X te	3	0,2881	3,78	*
Residuo	72	0,0762		

Tabella 4-5 Analisi della varianza per la concentrazione di Pb nelle branchie delle 4 specie ittiche analizzate (*=p<0,05, n.s.=non significativo).

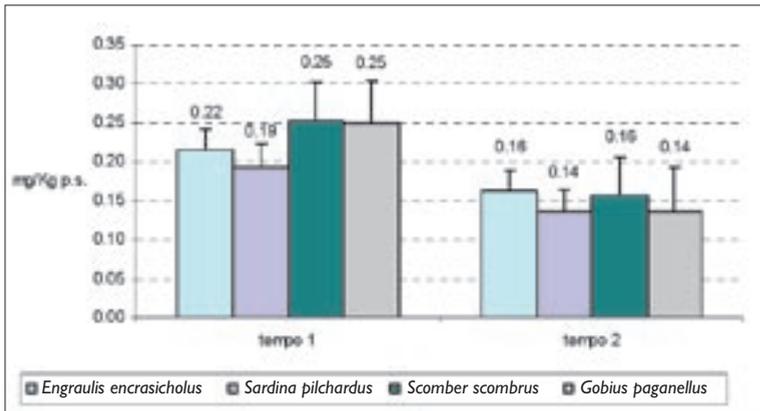


Figura 4-4 Concentrazione media (\pm E.S.) di Hg nelle branchie delle 4 specie ittiche analizzate nei due tempi.

4 specieX 2tempiX branchieXHg				
Fonte di variabilità	Gradi di libertà (g.l.)	Scarto quadratico medio	F	p
Specie (sp)	3	0,0063	1,00	n.s.
Tempo (te)	1	0,1683	22,68	*
spXte	3	0,0063	0,85	n.s.
Residuo	72	0,0074		

Tabella 4-6 Analisi della varianza per la concentrazione di Hg nelle branchie delle 4 specie ittiche analizzate (*= $p < 0.05$, n.s.=non significativo).

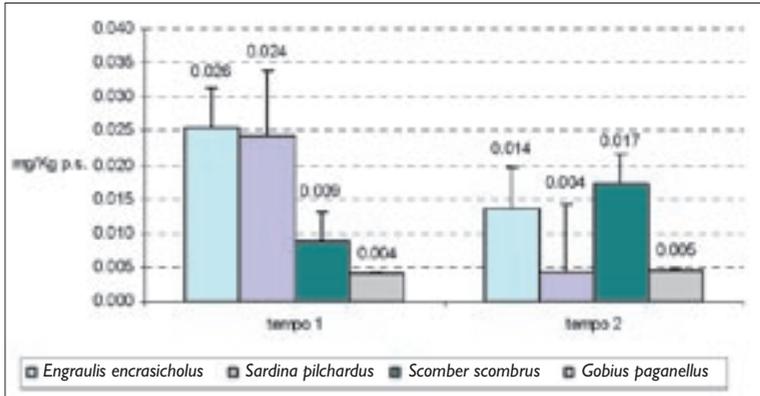


Figura 4-5 Concentrazione media (\pm E.S.) di Cd nel tessuto muscolare delle 4 specie ittiche analizzate nei due tempi.

4 specieX 2tempiX muscoloXCd				
Fonte di variabilità	Gradi di libertà (g.l.)	Scarto quadratico medio	F	p
Specie (sp)	3	0,0008	1,05	n.s.
Tempo (te)	1	0,0006	2,51	n.s.
spXte	3	0,0008	3,07	n.s.
Residuo	72	0,0003		

Tabella 4-7 Analisi della varianza per la concentrazione di Cd nel tessuto muscolare delle 4 specie ittiche analizzate (n.s.=non significativo).

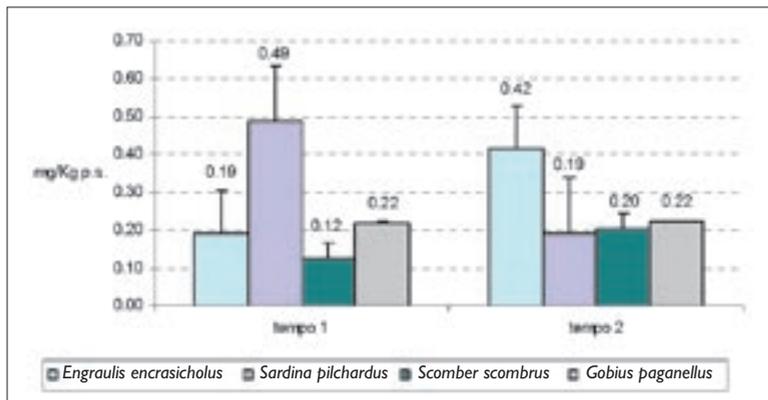


Figura 4-6 Concentrazione media (\pm E.S.) di Pb nel tessuto muscolare delle 4 specie ittiche analizzate nei due tempi.

4 specieX 2tempiX muscoloXPb				
Fonte di variabilità	Gradi di libertà (g.l.)	Scarto quadratico medio (s.q.)	F	p
Specie (sp)	3	0,1288	0,72	n.s.
Tempo (te)	1	0,0017	0,08	n.s.
spXte	3	0,1799	8,60	*
Residuo	72	0,0209		

Tabella 4-8 Analisi della varianza per la concentrazione di Pb nel tessuto muscolare delle 4 specie ittiche analizzate (*= $p < 0.05$, n.s.=non significativo).

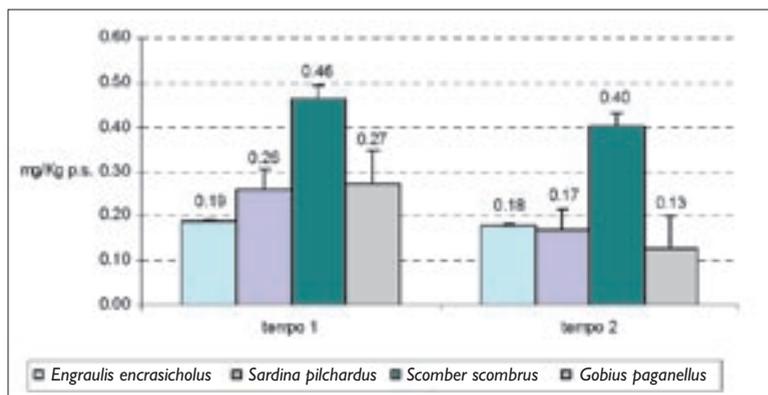


Figura 4-7 Concentrazione media (\pm E.S.) di Hg nel tessuto muscolare delle 4 specie ittiche analizzate nei due tempi.

4 specieX 2tempiX muscoloXHg				
Fonte di variabilità	Gradi di libertà (g.l.)	Scarto quadratico medio (s.q.)	F	p
Specie (sp)	3	0,2745	16,50	*
Tempo (te)	1	0,1164	11,36	*
spXte	3	0,0166	1,62	n.s.
Residuo	72	0,0102		

Tabella 4-9 Analisi della varianza per la concentrazione di Hg nel tessuto muscolare delle 4 specie ittiche analizzate (*= $p < 0.05$, n.s.=non significativo).

Questo risultato è confermato dall'analisi della varianza da cui risultano essere significative le interazioni specie e tempo (Tabella 4-9).

L'analisi SNK conferma che *Scomber scombrus* si differenzia per la concentrazione più elevata (0,46 mg/Kg). In generale il tempo 1 presenta le medie più alte.

T1 (*E. encrasicholus*, *S. pilchardus*, *S. scombrus*, *G. paganellus*) > T2 (*E. encrasicholus*, *S. pilchardus*, *S. scombrus*, *G. paganellus*).

Organi interni

Al tempo 1 *Sardina pilchardus* presenta la concentrazione più elevata (0,33 mg/Kg); al tempo 2 la specie con concentrazione più elevate di cadmio è *Engraulis encrasicholus* (0,26 mg/Kg) (Figura 4-8). L'analisi della varianza mostra un'interazione significativa fra specie e tempo (Tabella 4-10).

T1: *S. pilchardus* > *E. encrasicholus* > *S. scombrus* = *G. paganellus*

T2: *E. encrasicholus* > *S. scombrus* = *S. pilchardus* = *G. paganellus*

La concentrazione di piombo in organi interni delle quattro specie analizzate è risultata estremamente variabile in particolare al tempo 2 (Figura 4-9). Al tempo 2 *Gobius paganellus* presenta una concentrazione superiore a quella delle altre specie omogenee fra loro. Fra i due tempi non si osservano differenze di rilievo.

L'analisi della varianza non evidenzia fattori significativi (Tabella 4-11).

Le concentrazioni di mercurio sono relativamente omogenee nei singoli tempi, si osservano valori leggermente superiori al tempo 1 rispetto al tempo 2 (Figura 4-10).

Tessuto scheletrico

Le concentrazioni di cadmio nel tessuto scheletrico delle quattro specie analizzate è risultata piuttosto variabile (Figura 4-11). Infatti si registrano per *S. pilchardus* e *E. encrasicholus* le

concentrazioni più elevate in entrambi i tempi mentre per *G. paganellus* e *S. scombrus* i valori sono prossimi al limite di rilevabilità.

Questo risultato è confermato dall'analisi della varianza da cui risulta essere significativa l'interazione specie e tempo (Tabella 4-13).

Sono di seguito riportati i risultati dell'analisi SNK.

T1: *S. pilchardus* > *E. encrasicholus* > *G. paganellus* = *S. scombrus*

T2: *E. encrasicholus* > *S. pilchardus* = *G. paganellus* = *S. scombrus*

Le concentrazioni di piombo nel tessuto scheletrico delle quattro specie analizzate è risultata piuttosto variabile (Figura 4-10). Infatti si registrano per *S. pilchardus* e *E. encrasicholus* le concentrazioni più elevate in entrambi i tempi.

Questo risultato è confermato dall'analisi della varianza da cui risulta essere significativa l'interazione specie e tempo (Tabella 4-14).

Sono di seguito riportati i risultati dell'analisi SNK.

T1: *S. pilchardus* > *E. encrasicholus* > *G. paganellus* = *S. scombrus*

T2: *E. encrasicholus* = *S. pilchardus* > *G. paganellus* > *S. scombrus*

Dall'esame del grafico (Figura 4-13) non emergono differenze fra le concentrazioni di mercurio nel tessuto scheletrico delle quattro specie analizzate al Tempo 1. Al Tempo 2 si osserva il valore più basso in *Gobius paganellus*, anche se l'analisi della varianza non rivela nessuna significatività (Tabella 4-15).

4.4.2. Ripartizione dei metalli nel biota

Di seguito sono riportate, per ogni specie considerata, gli istogrammi delle concentrazioni dei tre metalli nei vari tessuti e le tabelle relative all'analisi della varianza.

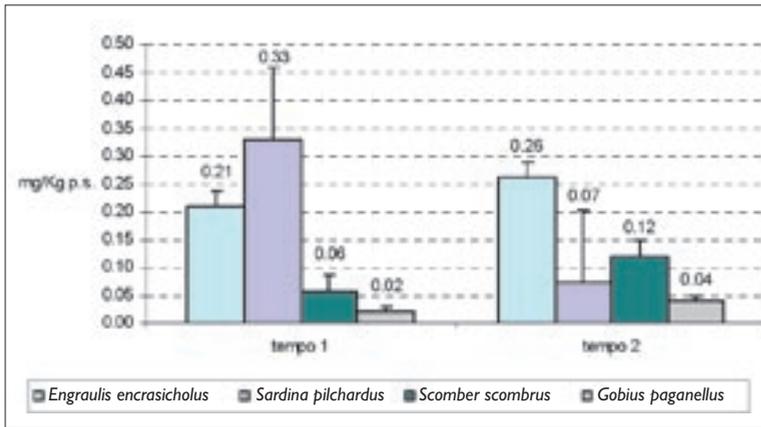


Figura 4-8 Concentrazione media (\pm E.S.) di Cd in organi interni delle 4 specie ittiche analizzate nei due tempi.

4 specieX 2tempiX organi interniXCd				
Fonte di variabilità	Gradi di libertà (g.l.)	Scarto quadratico medio (s.q.)	F	p
Specie (sp)	3	0,1858	1,60	n.s.
Tempo (te)	1	0,0191	3,17	n.s.
spXte	3	0,1165	19,40	*
Residuo	72	0,0060		

Tabella 4-10 Analisi della varianza per la concentrazione di Cd in organi interni delle 4 specie ittiche analizzate (*= $p < 0,05$, n.s.=non significativo)

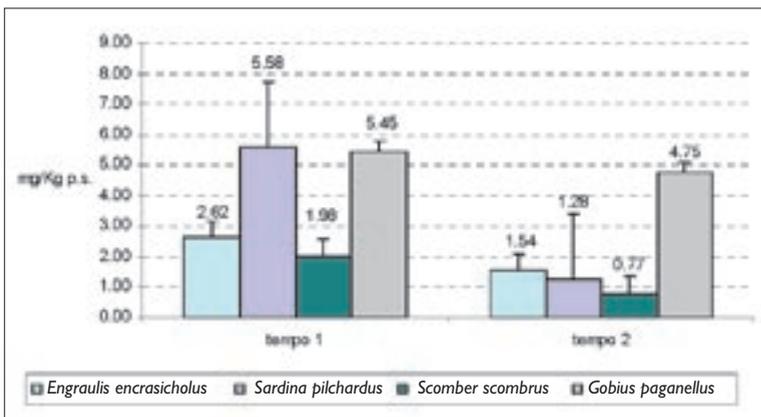


Figura 4-9 Concentrazione media (\pm E.S.) di Pb in organi interni delle 4 specie ittiche analizzate nei due tempi.

4 specieX 2tempiX organi interniXPb				
Fonte di variabilità	Gradi di libertà (g.l.)	Scarto quadratico medio (s.q.)	F	p
Specie (sp)	3	0,4361	2,08	n.s.
Tempo (te)	1	0,3821	4,15	n.s.
SpXte	3	0,2097	2,28	n.s.
Residuo	72	0,0920		

Tabella 4-11 Analisi della varianza per la concentrazione di Pb in organi interni delle 4 specie ittiche analizzate. (n.s.=non significativo)

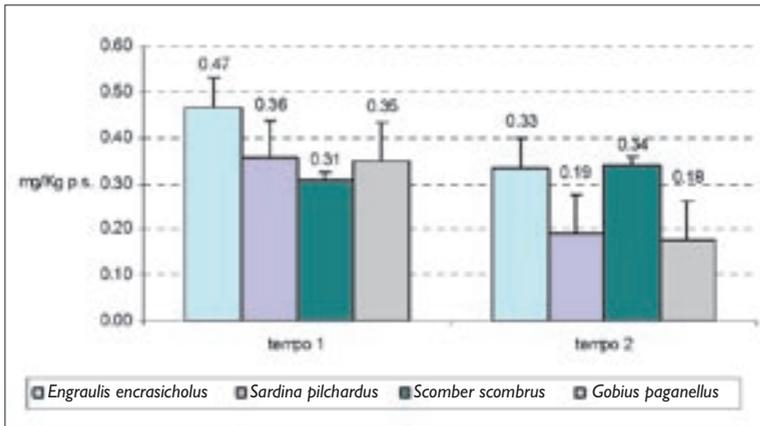


Figura 4-10 Concentrazione media (\pm E.S.) di Hg in organi interni delle 4 specie ittiche analizzate nei due tempi.

4 specieX 2tempiX organi interniXHg				
Fonte di variabilità	Gradi di libertà (g.l.)	Scarto quadratico medio	F	p
Specie (sp)	3	0,0770	1,68	n.s.
Tempo (te)	1	0,2352	9,80	n.s.
SpXte	3	0,0458	1,91	n.s.
Residuo	72	0,0240		

Tabella 4-12 Analisi della varianza per la concentrazione di Hg in organi interni delle 4 specie ittiche analizzate. (n.s.=non significativo)

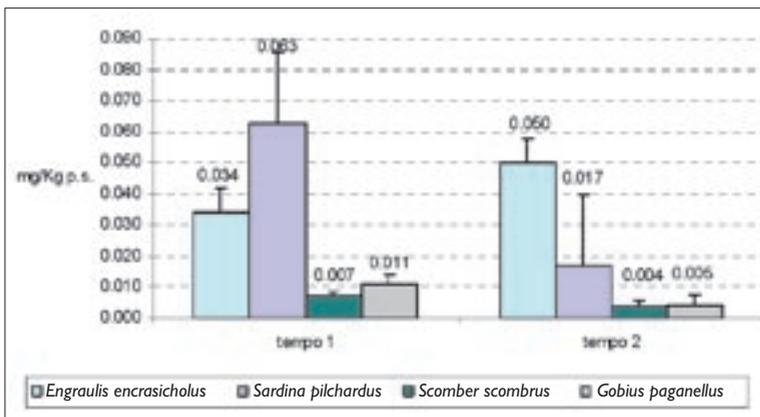


Figura 4-11 Concentrazione media (\pm E.S.) di Cd nel tessuto scheletrico delle 4 specie ittiche analizzate nei due tempi.

4 specieX 2tempiX scheletroXCd				
Fonte di variabilità	Gradi di libertà (g.l.)	Scarto quadratico medio	F	p
Specie (sp)	3	0,0824	3,93	n.s.
Tempo (te)	1	0,0176	5,42	n.s.
spXte	3	0,0210	6,47	*
Residuo	72	0,0032		

Tabella 4-13 Analisi della varianza per la concentrazione di Cd nel tessuto scheletrico delle 4 specie ittiche analizzate. (*= $p < 0,05$, n.s.=non significativo)

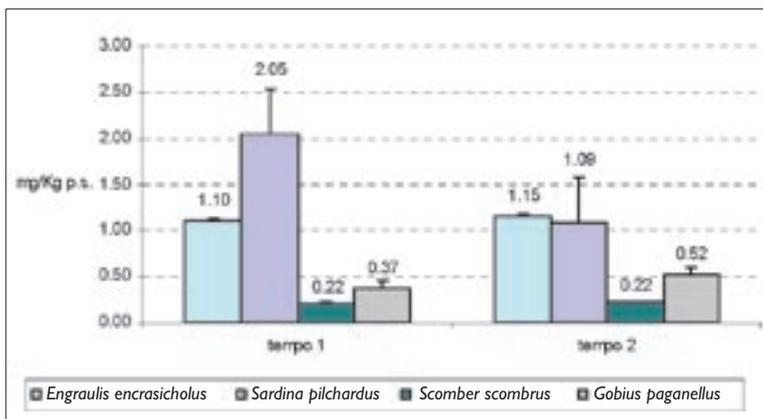


Figura 4-12 Concentrazione media (\pm E.S.) di Pb nel tessuto scheletrico delle 4 specie ittiche analizzate nei due tempi.

4 specieX 2tempiX scheletroXPb				
Fonte di variabilità	Gradi di libertà (g.l.)	Scarto quadratico medio	F	p
Specie (sp)	3	2,3399	10,84	n.s.
Tempo (te)	1	0,0551	0,86	n.s.
SpXte	3	0,2158	3,36	*
Residuo	72	0,0643		

Tabella 4-14 Analisi della varianza per la concentrazione di Pb nel tessuto scheletrico delle 4 specie ittiche analizzate. (*= $p < 0.05$, n.s.=non significativo)

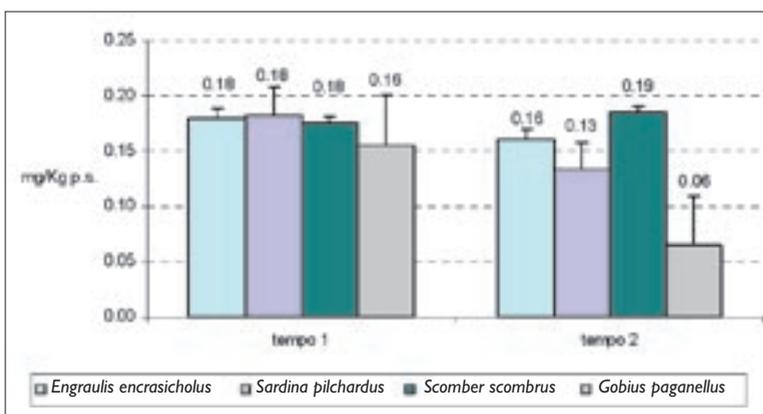


Figura 4-13 Concentrazione media (\pm E.S.) di Hg nel tessuto scheletrico delle 4 specie ittiche analizzate nei due tempi.

4 specieX 2tempiX scheletroXHg				
Fonte di variabilità	Gradi di libertà (g.l.)	Scarto quadratico medio	F	p
Specie (sp)	3	0,0195	2,06	n.s.
Tempo (te)	1	0,0278	5,20	n.s.
spXte	3	0,0095	1,77	n.s.
Residuo	72	0,0053		

Tabella 4-15 Analisi della varianza per la concentrazione di Hg nel tessuto scheletrico delle 4 specie ittiche analizzate. (n.s.=non significativo)

Engraulis encrasicolus

Dall'osservazione del grafico (Figura 4-14) si evidenziano le maggiori concentrazioni per organi interni, che sia al tempo 1 che al tempo 2 si attestano rispettivamente su 0,21 e 0,26 mg/Kg. Anche per gli altri tre tessuti non si osservano differenze fra i due tempi.

A conferma di tutto questo l'analisi della varianza evidenzia differenze significative per i tessuti (Tabella 4-16).

Dall'osservazione del grafico (Figura 4-15) si evidenziano le maggiori concentrazioni per le branchie, che sia al tempo 1 che al tempo 2 si attestano rispettivamente su 3,63 e 5,22 mg/Kg. Anche per gli altri tre tessuti non si osservano differenze fra i due tempi. A conferma di tutto questo l'analisi della varianza evidenzia differenze significative per i tessuti (Tabella 4-17).

La concentrazione di mercurio nei quattro tessuti analizzati di *Engraulis encrasicolus* sono risultate piuttosto omogenee (Figura 4-16). Il tessuto più contaminato risultano essere gli organi interni (0,47 mg/Kg e 0,33 mg/Kg rispettivamente al tempo 1 e al tempo 2) pur mantenendo concentrazioni dello stesso ordine di grandezza rispetto agli altri tessuti. A conferma di questo l'analisi della varianza non evidenzia differenze significative (Tabella 4-18).

Gobius paganellus

Le concentrazioni di cadmio riscontrate nei tessuti di *Gobius paganellus* sono piuttosto esigue. Dall'osservazione del grafico (Figura 4-17) si rileva, in entrambi i tempi, una maggiore contaminazione per il tessuto organi interni (0,02 e 0,04 mg/Kg rispettivamente al tempo 1 e al tempo 2). Nonostante ciò l'analisi della varianza non evidenzia nessuna significatività (Tabella 4-19).

La distribuzione della concentrazione di piombo, nei quattro tessuti analizzati per la specie *Gobius paganellus*, risulta caratterizzata dai valori riscontrati in organi interni (Figura 4-18). Sia al tempo 1 che al tempo 2 le due concentrazioni sono le più alte e sono rispettivamente 5,45 e 4,75 mg/Kg. In generale non si osservano differenze fra i due tempi.

Questo risultato è confermato dall'analisi della varianza da cui risulta essere significativa la differenza fra tessuti (Tabella 4-20).

La concentrazione di mercurio nei quattro tessuti analizzati di *Gobius paganellus* è risultata variabile nei due tempi (Figura 4-19). In particolare si osserva che le concentrazioni al tempo 1 sono tutte più alte rispetto al tempo 2. Questo risultato è confermato dall'analisi della varianza da cui risultano essere significative le differenze fra i due tempi (Tabella 4-21).

Sardina pilchardus

La concentrazione di cadmio nei quattro tessuti analizzati di *Sardina pilchardus* è risultata molto variabile (Figura 4-20).

In particolare si osserva come a T1 gli organi interni presentano un valore di concentrazione di un ordine di grandezza superiore a quello degli altri tessuti e a quello degli stessi organi interni al tempo 2. Per gli altri tessuti (muscolo, branchie e scheletro) non ci sono differenze rilevanti fra i due tempi. Questo risultato è confermato dall'analisi della varianza (Tabella 4-22) da cui risultano essere significative l'interazione tempo x tessuto.

Nel caso di *Sardina pilchardus* la maggiore contaminazione da piombo si è verificata per le branchie con 8,36 mg/Kg al tempo 1 e 3,36 mg/Kg al tempo 2 anche per muscolo, organi interni e scheletro le concentrazioni sono maggiori al tempo 1 rispetto al tempo 2 (Figura 4-21).

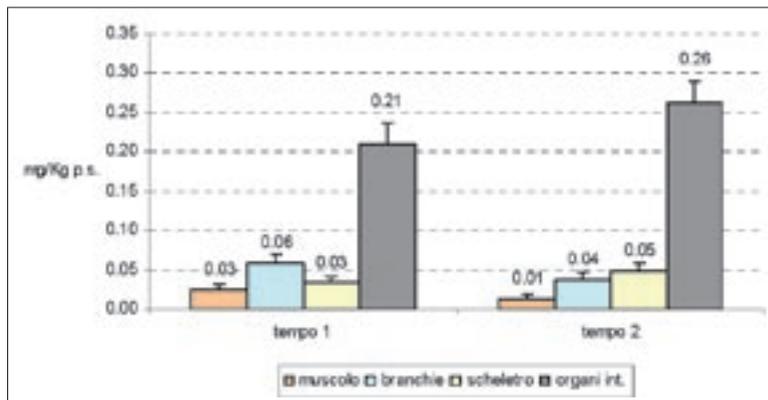


Figura 4-14 Concentrazione media (\pm E.S.) di Cd nei 4 tessuti analizzati nei due tempi di *Engraulis encrasicolus*.

4 tessutiX 2tempiX aliceXCd				
Fonte di variabilità	Gradi di libertà (g.l.)	Scarto quadratico medio	F	p
Tessuto (ts)	3	0,3773	20,28	*
Tempo (te)	1	0,0000	0,00	n.s.
teXts	3	0,0186	2,16	n.s.
Residuo	72	0,0086		

Tabella 4-16 Analisi della varianza per la concentrazione di Cd nei quattro tessuti analizzati di *Engraulis encrasicolus*. (*= $p < 0.05$, n.s.=non significativo)

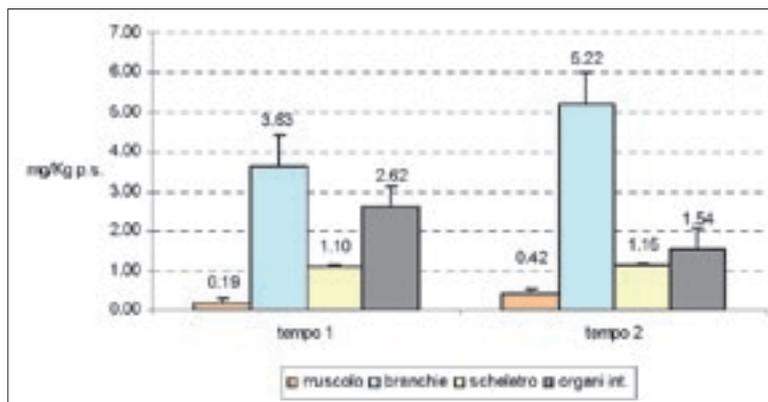


Figura 4-15 Concentrazione media (\pm E.S.) di Pb nei 4 tessuti analizzati nei due tempi di *Engraulis encrasicolus*.

4 tessutiX 2tempiX aliceXPb				
Fonte di variabilità	Gradi di libertà (g.l.)	Scarto quadratico medio	F	p
Tessuto (ts)	3	1,1824	17,57	*
Tempo (te)	1	0,0526	0,80	n.s.
teXts	3	0,0673	1,03	n.s.
Residuo	72	0,0653		

Tabella 4-17 Analisi della varianza per la concentrazione di Cd nei quattro tessuti analizzati di *Engraulis encrasicolus*. (*= $p < 0.05$, n.s.=non significativo)

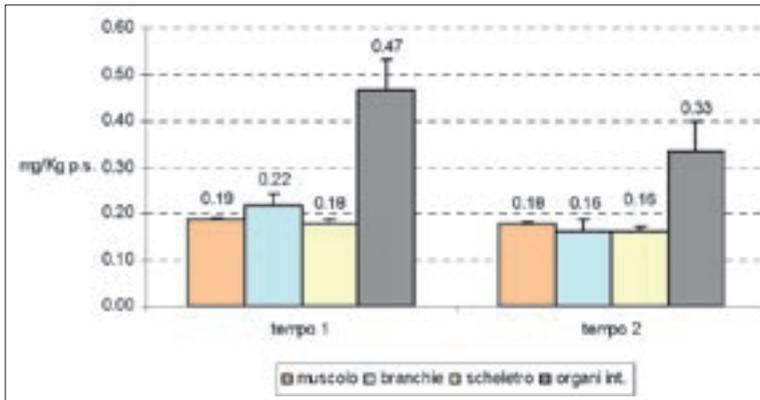


Figura 4-16 Concentrazione media (\pm E.S.) di Hg nei 4 tessuti analizzati nei due tempi di *Engraulis encrasicolus*.

4 tessutiX 2tempiX alicexHg				
Fonte di variabilità	Gradi di libertà (g.l.)	Scarto quadratico medio	F	p
Tessuto (ts)	3	0,2404	15,31	n.s.
Tempo (te)	1	0,0553	2,72	n.s.
teXts	3	0,0157	0,77	n.s.
Residuo	72	0,0203		

Tabella 4-18 Analisi della varianza per la concentrazione di Hg nei quattro tessuti analizzati di *Engraulis encrasicolus*. (n.s.=non significativo)

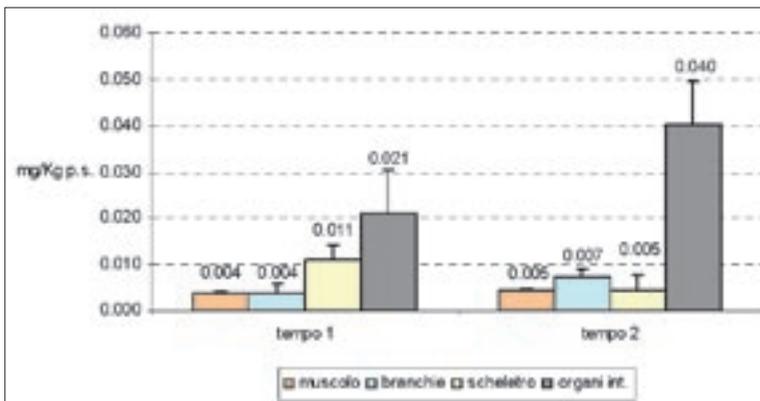


Figura 4-17 Concentrazione media (\pm E.S.) di Cd nei 4 tessuti analizzati nei due tempi di *Gobius paganelus*.

4 tessutiX 2tempiX paganelloXCd				
Fonte di variabilità	Gradi di libertà (g.l.)	Scarto quadratico medio	F	p
Tessuto (ts)	3	0,0872	12,50	n.s.
Tempo (te)	1	0,0076	2,51	n.s.
teXts	3	0,0070	2,30	n.s.
Residuo	72	0,0030		

Tabella 4-19 Analisi della varianza per la concentrazione di Cd nei quattro tessuti analizzati di *Gobius paganelus*. (n.s.=non significativo)

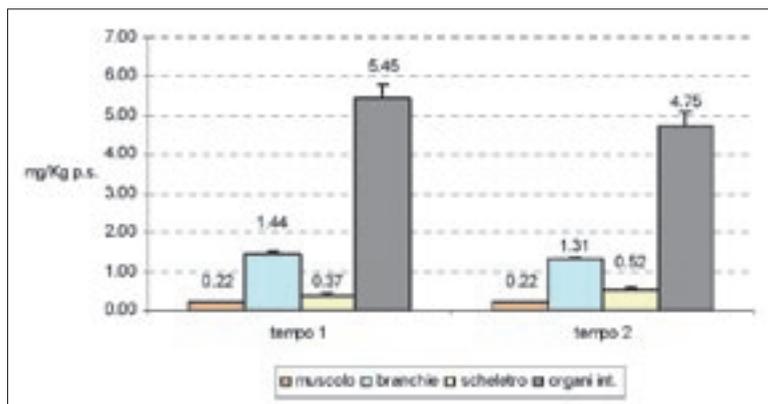


Figura 4-18 Concentrazione media (\pm E.S.) di Pb nei due tempi nei 4 tessuti analizzati di *Gobius paganelus*.

4 tessutiX 2tempiX paganelloXPb				
Fonte di variabilità	Gradi di libertà (g.l.)	Scarto quadratico medio	F	p
Tessuto (ts)	3	102,4640	148,37	**
Tempo (te)	1	0,5610	0,04	n.s.
teXts	3	0,6906	0,05	n.s.
Residuo	72	13,7183		

Tabella 4-20 Analisi della varianza per la concentrazione di Pb nei quattro tessuti analizzati di *Gobius paganelus*. (**= $p < 0,01$, n.s.=non significativo).

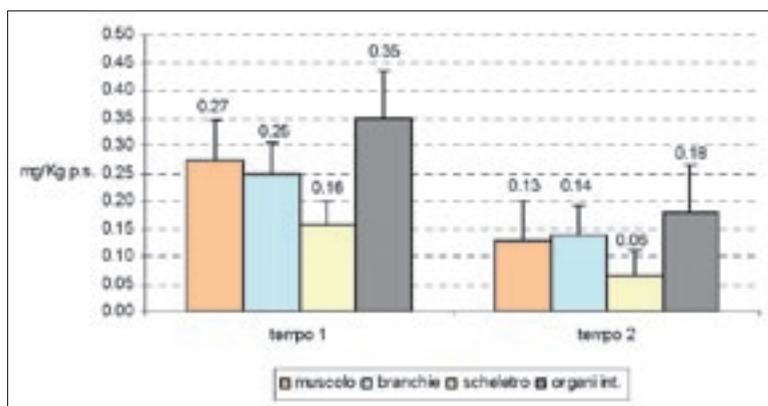


Figura 4-19 Concentrazione media (\pm E.S.) di Hg nei 4 tessuti analizzati nei due tempi di *Gobius paganelus*.

4 tessutiX 2tempiX paganelloXHg				
Fonte di variabilità	Gradi di libertà (g.l.)	Scarto quadratico medio (s.q.)	F	p
Tessuto (ts)	3	0.1088	61.34	n.s.
Tempo (te)	1	0.4706	51.40	*
teXts	3	0.0018	0.19	n.s.
Residuo	72	0.0092		

Tabella 4-21 Analisi della varianza per la concentrazione di Hg nei quattro tessuti analizzati di *Gobius paganelus*. (**= $p < 0,01$, n.s.=non significativo).

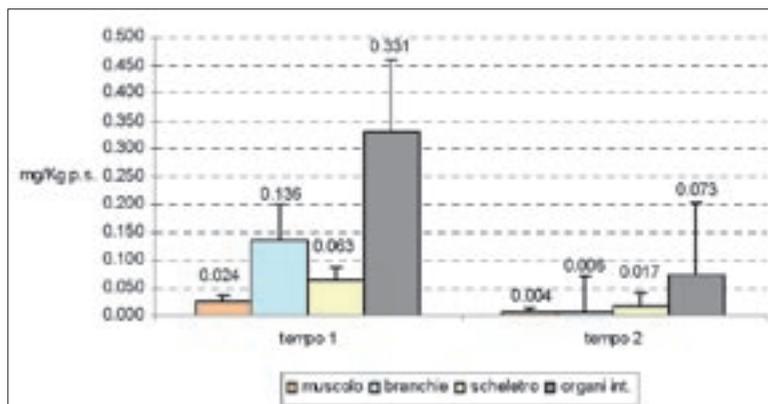


Figura 4-20 Concentrazione media (\pm E.S.) di Cd nei 4 tessuti analizzati nei due tempi di *Sardina pilchardus*.

4 tessutiX 2tempiX sardinaXCd				
Fonte di variabilità	Gradi di libertà (g.l.)	Scarto quadratico medio	F	p
Tessuto (ts)	3	0,1394	2,42	n.s.
Tempo (te)	1	0,2565	98,80	*
teXts	3	0,0576	22,17	*
Residuo	72	0,0026		

Tabella 4-22 Analisi della varianza per la concentrazione di Cd nei quattro tessuti analizzati di *Sardina pilchardus* (*= $p < 0.05$, n.s.=non significativo).

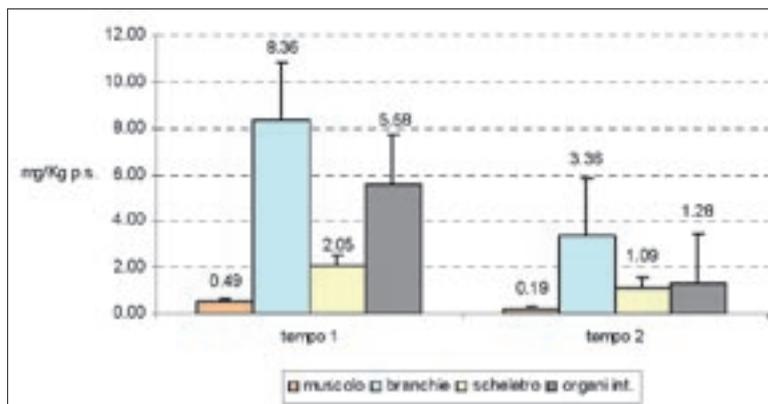


Figura 4-21 Concentrazione media (\pm E.S.) di Pb nei 4 tessuti analizzati nei due tempi di *Sardina pilchardus*.

4 tessutiX 2tempiX sardinaXPb				
Fonte di variabilità	Gradi di libertà (g.l.)	Scarto quadratico medio	F	p
Tessuto (ts)	3	115,5247	4,17	n.s.
Tempo (te)	1	139,0622	11,39	**
teXts	3	27,7305	2,27	n.s.
Residuo	72	12,2088		

Tabella 4-23 Analisi della varianza per la concentrazione di Pb nei quattro tessuti analizzati di *Sardina pilchardus* (**= $p < 0.01$, n.s.=non significativo).

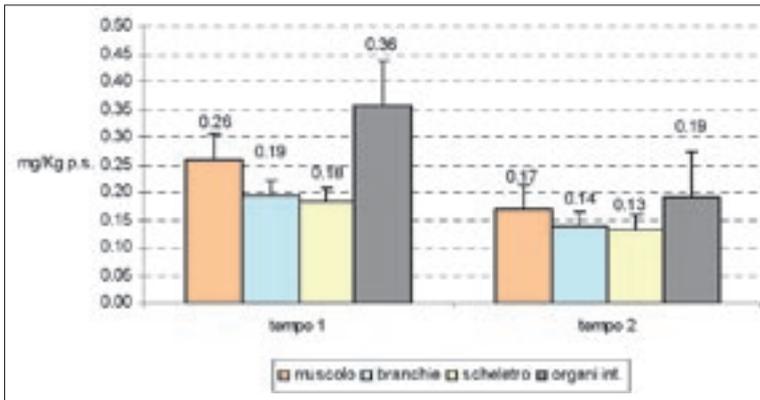


Figura 4-22 Concentrazione media (\pm E.S.) di Hg nei 4 tessuti analizzati nei due tempi di *Sardina pilchardus*.

4 tessutiX 2tempiX sardinaXHg				
Fonte di variabilità	Gradi di libertà (g.l.)	Scarto quadratico medio	F	p
Tessuto (ts)	3	0,0350	4,42	n.s.
Tempo (te)	1	0,1077	27,50	*
teXts	3	0,0079	2,02	n.s.
Residuo	72	0,0039		

Tabella 4-24 Analisi della varianza per la concentrazione di Pb nei quattro tessuti analizzati di *Sardina pilchardus* (*= $p < 0.05$, n.s.=non significativo).

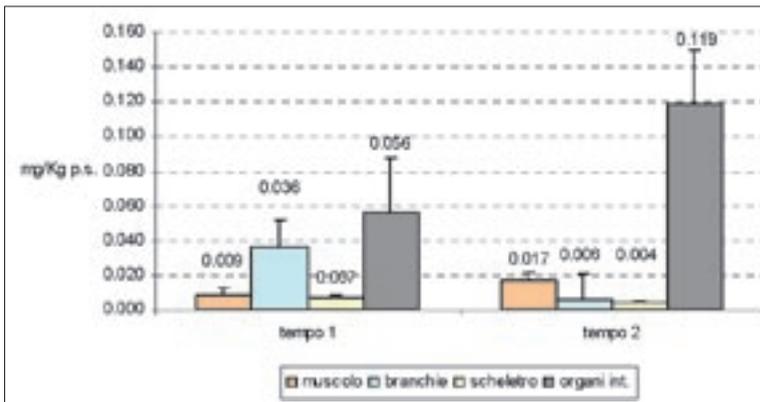


Figura 4-23 Concentrazione media (\pm E.S.) di Cd nei 4 tessuti analizzati nei due tempi di *Scomber scombrus*.

4 tessutiX 2tempiX sgombroXCd				
Fonte di variabilità	Gradi di libertà (g.l.)	Scarto quadratico medio	F	p
Tessuto (ts)	3	0,2184	4,24	n.s.
Tempo (te)	1	0,0054	0,80	n.s.
teXts	3	0,0515	7,71	*
Residuo	72	0,0067		

Tabella 4-25 Analisi della varianza per la concentrazione di Cd nei quattro tessuti analizzati di *Scomber scombrus* (*= $p < 0.05$, n.s.=non significativo).

Questo risultato è confermato dall'analisi della varianza (Tabella 4-23) da cui risulta essere significative le differenze fra i due tempi.

La concentrazione di mercurio nei quattro tessuti analizzati di *Sardina pilchardus* è risultata maggiore al tempo 1 rispetto al tempo 2 (Figura 4-22). In particolare il tessuto più contaminato sono gli organi interni al tempo 1 con 0.36 mg/Kg.

L'analisi della varianza conferma questo risultato da cui risultano essere significative le differenze fra i due tempi. (Tabella 4-24).

Scomber scombrus

La concentrazione di cadmio nei quattro tessuti analizzati di *Scomber scombrus* è risultata molto variabile (Figura 4-23). In particolare si osserva come al tempo 1 gli organi interni presentano valori di un ordine di grandezza superiore agli altri tessuti,

mentre muscolo e branchie non presentano rilevanti differenze fra i due tempi.

Questo risultato è confermato dall'analisi della varianza da cui risulta essere significativa l'interazione tempo X tessuto (Tabella 4-25).

La concentrazione di piombo analizzata nei quattro tessuti di *Scomber scombrus* non è risultata variabile fra i due tempi ma variabile fra i tessuti (Figura 4-24). In particolare si osserva che branchie e organi interni sono i più contaminati in entrambi i tempi.

Questo risultato è confermato dall'analisi della varianza da cui risultano significative le differenze fra i tessuti (Tabella 4-26).

La concentrazione di mercurio nei quattro tessuti analizzati di *Scomber scombrus* è risultata piuttosto omogenea (Figura 4-25). Non si osservano pertanto differenze significative fra tessuti e fra i due tempi di indagine. L'analisi della varianza conferma

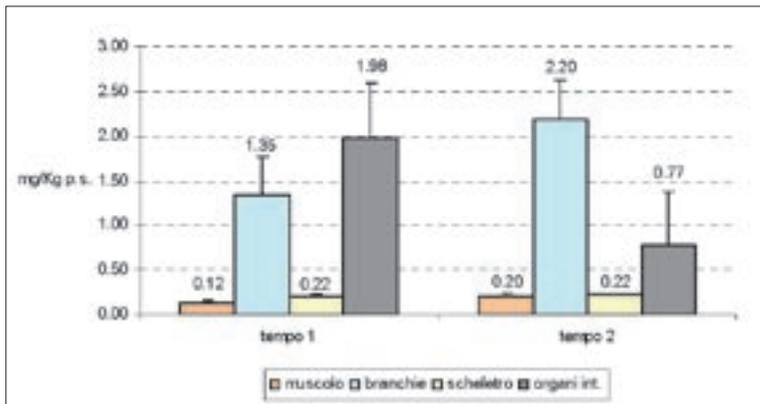


Figura 4-24 Concentrazione media (\pm E.S.) di Pb nei 4 tessuti analizzati nei due tempi di *Scomber scombrus*.

4 tessuti X 2 tempi X sgombro X Pb				
Fonte di variabilità	Gradi di libertà (g.l.)	Scarto quadratico medio	F	p
Tessuto (ts)	3	1,1708	9,36	*
Tempo (te)	1	0,0063	0,23	n.s.
teXts	3	0,1250	4,55	n.s.
Residuo	72	0,0275		

Tabella 4-26 Analisi della varianza per la concentrazione di Pb nei quattro tessuti analizzati di *Scomber scombrus* (*= $p < 0.05$, n.s.=non significativo).

quest'ultimo risultato non evidenziando valori significativi (Tabella 4-27).

4.4.3. Rete trofica

Vengono riportate, per ogni taxa considerato, gli istogrammi delle concentrazioni dei tre metalli e le tabelle relative all'analisi della varianza.

Al fine di rendere confrontabili le concentrazioni dei metalli sui vari esponenti della rete trofica in esame, si è proceduto alla scelta del tessuto "organi interni" nel caso dei pesci, delle parti molli per i bivalvi e del campione medio per il plancton. Il numero di repliche (tre per ogni specie o taxa) è stato uniformato scegliendo i dati con l'ausilio della tabella dei numeri random.

La concentrazione di cadmio negli otto taxa analizzati e risultano più elevate, al tempo 1 rispetto al tempo 2 ad eccezione di zooplancton (0,32 mg/Kg a tempo 1 e 0,23 mg/Kg a

tempo 2). che però mantiene lo stesso ordine di grandezza, *Mytilus galloprovincialis* ha presentato le maggiori concentrazioni (1,93 e 1,42 mg/Kg peso secco rispettivamente al tempo 1 e al tempo 2) (Figura 4-26).

Questo risultato è confermato dall'analisi della varianza (Tabella 4-28) da cui risultano essere significative le differenze fra i due tempi e fra i taxa.

La concentrazione di piombo negli otto taxa presi in esame è risultata piuttosto variabile (Figura 4-27). In particolare si osserva come al tempo 1 fitoplancton (15,81 mg/Kg) presenta il valore di concentrazione superiore di un ordine di grandezza rispetto agli altri taxa, mentre zooplancton, *Engraulis encrasicolus*, *Scomber scombrus* *Mytilus galloprovincialis* e *Chamelea gallina* non presentano differenze rilevanti fra i due tempi.

Questo risultato è confermato dall'analisi della varianza da cui risulta essere signifi-

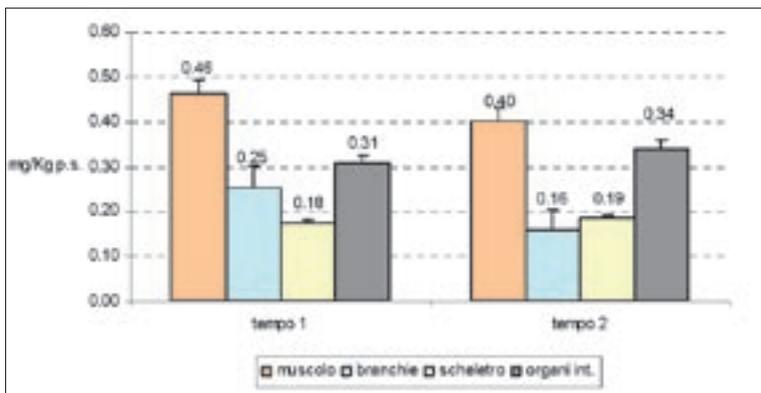


Figura 4-25 Concentrazione media (±E.S.) di Hg nei 4 tessuti analizzati nei due tempi di *Scomber scombrus*.

4 tessuti X 2 tempi X sgombro X Hg				
Fonte di variabilità	Gradi di libertà (g.l.)	Scarto quadratico medio	F	p
Tessuto (ts)	3	0,2704	14,83	n.s.
Tempo (te)	1	0,0166	1,41	n.s.
TeXts	3	0,0182	1,55	n.s.
Residuo	72	0,0117		

Tabella 4-27 Analisi della varianza per la concentrazione di Hg nei quattro tessuti analizzati di *Scomber scombrus* (n.s.=non significativo).

cativa l'interazione taxaXtempo (Tabella 4-29).

In base all'analisi SNK si hanno i seguenti risultati per i due tempi;

T1: *C. gallina* = *S. scombrus* = *G. paganellus* = *E. encrasicholus* < *G. paganellus* = *S. pilchardus* = *M. galloprovincialis* = zooplancton = fitoplancton

T2: *G. paganellus* >zooplancton = *M. galloprovincialis* = *E. encrasicholus* = fitoplancton = *S. pilchardus* = *S. scombrus* = *C. gallina*

Le concentrazioni di mercurio negli otto taxa analizzati si ripartiscono in due gruppi in entrambi i tempi. In particolare si osservano le maggiori concentrazioni per i pesci e i molluschi bivalvi rispetto alle specie planctoniche. Queste ultime presentano concentrazioni inferiori di un ordine di grandezza (Figura 4-28).

In generale le concentrazioni sono maggiori al tempo 1.

Dall'analisi della varianza risulta essere significativi i fattori taxa e tempo (Tabella 4-30). L'analisi SNK conferma le osservazioni dei grafici.

T1: fitoplancton = zooplancton = *M. galloprovincialis* < *C. gallina* = *S. scombrus* = *S. pilchardus* = *G. paganellus* = *E. encrasicholus*

T2: fitoplancton = zooplancton = *M. galloprovincialis* = *C. gallina* = *G. paganellus* = *S. pilchardus* = *S. scombrus* = *E. encrasicholus*

Per quanto concerne l'analisi nMDS sono risultati molto significativi (stress value <0.1 che rappresenta il valore ottimale, Clark 1993), i grafici di ordinamento relativi alle determinazioni dei metalli eseguite sulle parti molli dei molluschi. In particolare risultano molto dissimili i bioaccumuli dei tre metalli analizzati per *Mytilus galloprovincialis* e *Chamelea gallina* (Figura 4-29 a) indipendentemente dai due tempi di indagine (Figura 4-29 b).

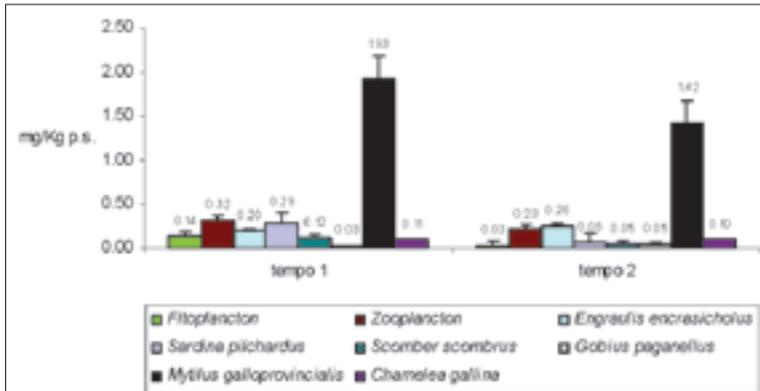


Figura 4-26 Concentrazione media (\pm E.S.) di Cd negli 8 taxa analizzati nei due tempi di indagine.

8 taxa X 2tempi X campione medio(organi interni) X Cd				
Fonte di variabilità	Gradi di libertà (g.l.)	Scarto quadratico medio	F	p
Taxa (tx)	7	0,7369	29,09	*
Tempo (te)	1	0,1062	11,53	*
txXte	7	0,0253	2,75	n.s.
Residuo	32	0,0092		

Tabella 4-28 Analisi della varianza per la concentrazione di Cd negli otto taxa analizzati nei due tempi di indagine (*= $p < 0.05$, n.s.=non significativo).

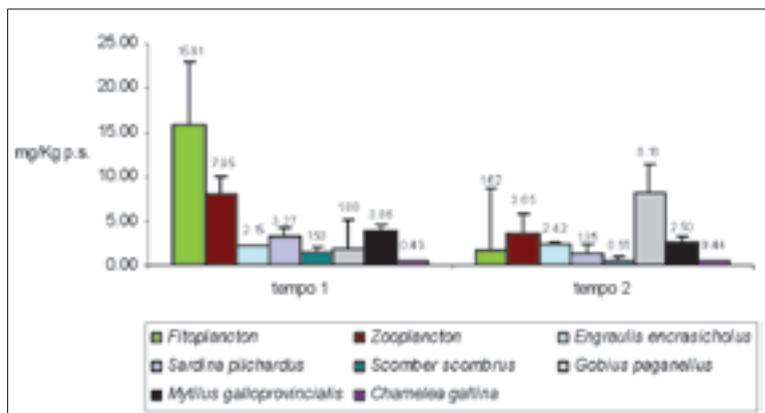


Figura 4-27 Concentrazione media (\pm E.S.) di Pb negli 8 taxa analizzati nei due tempi di indagine.

8 taxa X 2tempi X campione medio (organi interni) X Pb				
Fonte di variabilità	Gradi di libertà (g.l.)	Scarto quadratico medio	F	p
Taxa (tx)	7	2,6724	1,26	n.s.
Tempo (te)	1	1,8623	9,47	*
txXte	7	2,1281	10,82	*
Residuo	32	1,1967		

Tabella 4-29 Analisi della varianza per la concentrazione di Pb negli otto taxa analizzati nei due tempi di indagine (*= $p < 0.05$, n.s.=non significativo).

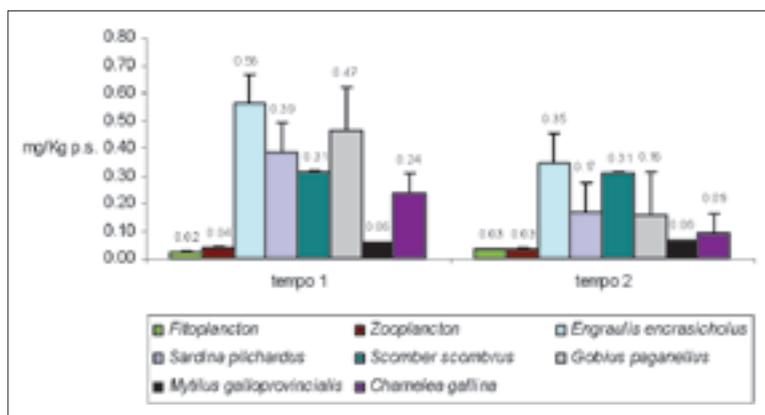


Figura 4-28 Concentrazione media (\pm E.S.) di Hg negli 8 taxa analizzati nei due tempi di indagine.

8 taxa X 2tempi X campione medio (organi interni) X Hg				
Fonte di variabilità	Gradi di libertà (g.l.)	Scarto quadratico medio ()	F	p
Taxa (tx)	7	0,1407	11,52	**
Tempo (te)	1	0,0470	10,08	**
txXte	7	0,0122	2,62	n.s.
Residuo	32	0,0047		

Tabella 4-30 Analisi della varianza per la concentrazione di Hg negli otto taxa analizzati nei due tempi di indagine (**= $p < 0.01$, n.s.=non significativo).

Le concentrazioni dei metalli osservate in fitoplancton e zooplancton si presentano significativamente dissimili in particolare si osserva come per fitoplancton ci siano differenze di accumulo, dei tre metalli analizzati, rispetto a zooplancton ma anche differenze per lo stesso fitoplancton fra i due tempi di indagine (Figura 4-30 a e b).

4.5. Discussione

Cadmio

I contenuti di cadmio sono estremamente variabili, infatti, l'elemento viene ritrovato a concentrazioni che vanno dal limite di rilevabilità analitico (0,004 mg/Kg) a 1,93 mg/Kg relativi al peso secco (Figura 4-26); valore quest'ultimo riscontrato nei mitili al

tempo I. Infatti, come riportato in letteratura, i livelli di cadmio nei molluschi bivalvi sono nettamente superiori a quelli delle altre classi di organismi eduli marini (Cubadda *et al.*, 1998).

La specie meno contaminata è *Gobius paganellus* che infatti presenta 0,04 mg/Kg (p.s.) per gli organi interni, mentre per tutti gli altri tessuti analizzati le concentrazioni sono prossime al limite di rilevabilità.

Per quanto riguarda la suddivisione in tessuti, eseguita sulle quattro specie di pesce (*Engraulis encrasicolus*, *Sardina pilchardus*, *Scomber scombrus*, *Gobius paganellus*), gli organi interni sono i più contaminati (0,33 mg/Kg per *Sardina pilchardus*). Da uno studio condotto in laboratorio su *Cyprinus carpio* è stata definita la capacità di accumulo

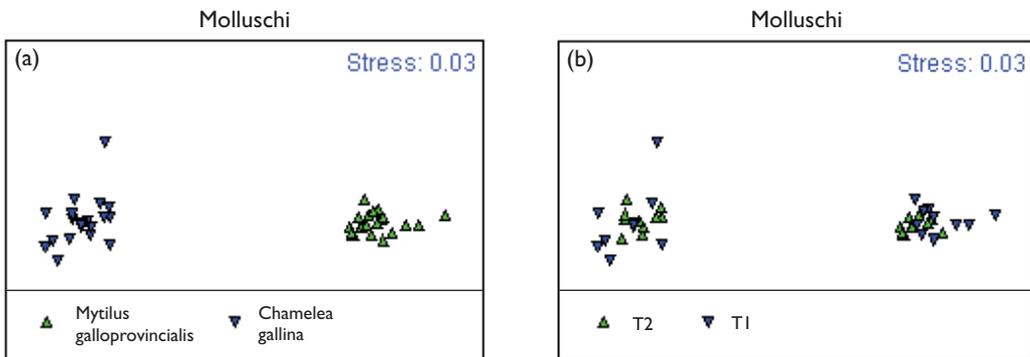


Figura 4-29 Grafico dell'nMDS relativo ai campioni di *Mytilus galloprovincialis* e *Chamelea gallina* per i tre metalli analizzati nei due tempi di indagine (Stress value 0.03).

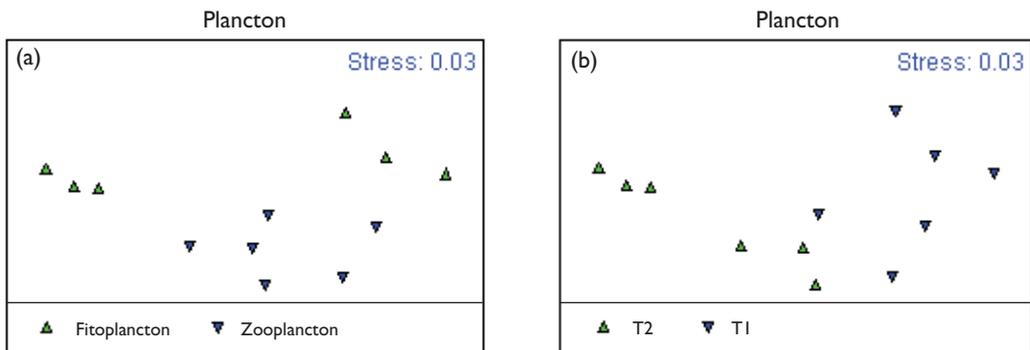


Figura 4-30 Grafico dell'nMDS relativo ai campioni di fitoplancton e zooplancton per i tre metalli analizzati nei due tempi di indagine (Stress value 0.03).

in organi bersaglio dopo esposizione a contaminazione da cadmio. Quando la specie in esame è trattata con prede contaminate oppure vive in acque inquinate il tessuto più contaminato è l'intestino (Kraal et al., 1995).

A conferma di quanto riportato da Ghidini et al. (2000) si osserva che le specie collocate sui gradini più bassi della rete trofica presentano valori paragonabili, se non più elevati, rispetto alle specie collocate ai vertici. Un esempio in proposito è la concentrazione dello zooplancton (0,32 mg/Kg) confrontata con quella di *Scomber scombrus* (0,12 mg/Kg).

Il lavoro di Di Domenico et al. (1997), riporta per i mitili di una zona contaminata valori di ca. 1 mg/Kg mentre per una zona adibita a pesca viene dato un valore di 0,23 mg/Kg (valori medi relativi al peso fresco) per mitili e 0,1 mg/Kg per le vongole. I dati del presente lavoro sono rispettivamente 0,17 mg/Kg per i mitili e 0,014 mg/Kg per le vongole.

Considerando il tessuto muscolare, le concentrazioni medie fra i due tempi di indagine (peso secco) sulle specie *Engraulis encrasicolus* (0,020 mg/Kg), *Sardina pilchardus* (0,014 mg/Kg), e *Scomber scombrus* (0,013 mg/Kg) sono inferiori rispetto a quelle pubblicate da Ghidini et al. (2000).

Il rapporto di EEA 2/2003 (Green et al., 2003) riporta un trend decrescente (nello spazio temporale 1984-2000) per la concentrazione di cadmio in mitili prelevati in Nord-Est Atlantico e Mediterraneo anche se purtroppo non ci sono dati relativi all'Adriatico e alle coste italiane in generale.

In base al rapporto ISTISAN 98/11 (Cubadda et al. 1998) i livelli medi di cadmio nei pesci del mare Adriatico sono dell'ordine di alcuni ppb (coerenti con quanto riscontrato nel presente lavoro). La media aritmetica

dei valori osservati da Sapunar et al. (1989) in 35 campioni di specie diverse provenienti da un sito di riferimento è collocata nell'ordine delle decine dei ppb; livelli medi fino a 0,065 mg/Kg sono stati rilevati in squali e tonni pescati nel medio Adriatico. Tenori superiori ai 0,100 mg/Kg possono essere considerati esclusivi di un ristretto numero di specie stanziali e residenti in aree fortemente inquinate.

La Tabella 4-31 riporta i dati, relativi ai tre metalli ricercati, desunti dal rapporto dell'Istituto Superiore di Sanità (Cubadda et al., 1998).

Piombo

I valori delle concentrazioni del piombo sono molto variabili e vanno da 0,10 mg/Kg (muscolo di *S. scombrus* al tempo 1) a 15,81 mg/Kg (fitoplancton al tempo 1).

La concentrazione di piombo riscontrata nel fitoplancton varia considerevolmente fra i due tempi: 15,81 mg/Kg al tempo 1 e 1,62 mg/Kg al tempo 2.

Per quanto concerne la distribuzione in tessuti *Gobius paganellus*, specie con abitudini bentoniche, presenta una maggiore contaminazione in organi interni (5,1 mg/Kg media dei due tempi) mentre i pesci pelagici (*Engraulis encrasicolus*, *Sardina pilchardus*, e *Scomber scombrus*) hanno maggiore propensione ad accumulare il piombo nelle branchie. Al tempo 1 (Figura 4-27) si osserva che in concomitanza di elevate concentrazioni di piombo nelle specie planctoniche (15,81 mg/Kg per fitoplancton e 7,95 mg/Kg per zooplancton) si hanno le concentrazioni più elevate per *S. pilchardus* (3,27 mg/Kg), *E. encrasicolus* (2,15 mg/Kg) e *M. galloprovincialis* (3,86 mg/Kg). Le concentrazioni di background per il piombo nei mitili sono stimate intorno a 0,2 mg/Kg peso fresco (Green et al., 2003). I valori trovati nel presente lavoro sono dello stesso ordine di

grandezza (circa 0,3 mg/Kg) di quelli sopra riportati.

Nel report 2/2003 di EEA (Green *et al.*, 2003), si evince un trend delle concentrazioni di cadmio e piombo, relativo all'arco temporale 1984-2000, in diminuzione nei mitili sia del Nord-est Atlantico che del Mediterraneo.

Mercurio

La distribuzione delle concentrazioni del mercurio, nei vari organi e nelle diverse specie esaminate risulta essere più omogenea rispetto a quelle del cadmio e del piombo.

In generale i valori di concentrazione del mercurio variano da un minimo di 0,03 mg/kg pari al limite di rilevabilità analitico, ad un valore massimo di 0,47 mg/Kg di peso secco per gli organi interni di *Engraulis encrasicolus* (tempo I).

Per *Engraulis encrasicolus* e per *Sardina pilchardus* i tessuti più contaminati sono gli organi interni mentre per *Gobius paganellus* e per *Scomber scombrus* le concentrazioni più elevate si riscontrano nel tessuto muscolare. Nell'unico esemplare di tonno alletterato analizzato è stato accertato un valore elevato di mercurio (6,24 mg/Kg peso fresco sul tessuto muscolare).

Specie	area	Cd	Pb	Hg	note	riferimento
<i>E. encrasicolus</i>	Medio Adriatico	2	140	270	p.f.	Del Prete e Bolletta (1984)
<i>E. encrasicolus</i>	Split (Kastela bay)	-	-	282	p.f. area industriale	Mikac e Picer (1985)
<i>E. encrasicolus</i>	Split (Kastela bay)	-	-	405	p.f. area industriale CRM	Buzina <i>et al.</i> (1989)
<i>S. pilchardus</i>	Alto Adriatico	-	-	Me-Hg 56-145	p.f.	Mikac e Picer (1995)
<i>S. scombrus</i>	Medio Adriatico	4	180	100	p.f.	Del Prete e Bolletta (1984)
<i>S. scombrus</i>	Split (Kastela bay)	-	-	70	p.f. area industriale CRM	Buzina <i>et al.</i> (1989)
<i>M. galloprovincialis</i>	Ravenna	270	1244	43	p.f.	Crisetig <i>et al.</i> (1984)
<i>C. gallina</i>	Medio Adriatico	6	240	130	p.f.	Del Prete e Bolletta (1984)
<i>C. gallina</i>	Adriatico	1250	2100	-	p.f.	Pellegrini <i>et al.</i> (1992)
<i>G. paganellus</i>	Alto Adriatico	240	1000	170	p.f.	Bazzocchi (1993)

Tabella 4-31 Concentrazioni ($\mu\text{g}/\text{Kg}$) di cadmio, piombo e mercurio in organismi del mare Adriatico. I dati sono relativi al peso fresco e fanno riferimento al tessuto muscolare (parte edibile) (Cubadda *et al.*, 1998).

Legenda: p.f.= peso fresco, CRM = impiego di matrici certificate.

Bustamante *et al.* (2003), in un lavoro svolto all'isola di Kerguelen, prendono in esame otto specie di pesci alcuni con abitudini bentoniche e altri pelagiche. Per ogni specie sono stati analizzati; fegato, reni e tessuto muscolare comprensivo di parti rimanenti. I risultati mostrano il maggiore accumulo di mercurio nel tessuto muscolare (95,2 %) rispetto a fegato (4,1 %) e reni (0,7 %) per le specie con abitudini bentoniche. Stesso andamento si verifica per i pesci con abitudini pelagiche.

In generale il tessuto muscolare accumula mercurio più di milza, reni e fegato (Giblin e Massaro, 1973).

Le concentrazioni relative ai tessuti possono variare fra specie. Per esempio nel tessuto muscolare di trota iridea si trovano concentrazioni di mercurio più basse rispetto a fegato e altri organi. Al contrario si rilevano concentrazioni più elevate nel muscolo di carpe e salmonidi. (Potter *et al.*, 1975; Lange *et al.*, 1994).

Quest'ultimo risultato è coerente con quanto riscontrato nel presente lavoro nel caso di *S. scombrus* e *G. paganellus* al tempo 2. Mentre per *Engraulis encrasicolus* e *Sardina pilchardus* si trovano concentrazioni più elevate negli organi interni.

Circa il 95% di mercurio presente nel tessuto muscolare è in forma organica, cioè metilmercurio, mentre in fegato e gonadi solo una minima percentuale di mercurio totale è in forma organica (Olson *et al.*, 1978). Confrontando le velocità di assorbimento ed escrezione del metilmercurio nei diversi tessuti, quella riferita al muscolo, risulta essere la più bassa. Oliveira-Ribeiro *et al.* (1999) riportano assorbimenti rapidi di metilmercurio a livello intestinale e lenta distribuzione nel tessuto muscolare di Salmerino alpino (*Salvelinus alpinus*).

La maggiore via di assorbimento è quella intestinale, tramite il cibo, e successivo tra-

sporto al fegato attraverso il "sistema portale epatico". Anche l'assorbimento di metilmercurio nel fegato, con raggiungimento dell'equilibrio fra il 20 e il 25° giorno, avviene più velocemente rispetto al tessuto muscolare. Così, una elevata concentrazione di mercurio nel fegato, riflette un recente accumulo e può essere usata come indicatore di una recente esposizione; al contrario un' elevata concentrazione nel tessuto muscolare è indice di una prolungata contaminazione nel tempo.

In ambiente acquatico la produzione di metilmercurio da mercurio inorganico avviene ad opera di particolari comunità microbiche. Quindi una elevata produttività può essere attesa quando le condizioni ambientali sono favorevoli alla vita e allo sviluppo di tali microrganismi.

Sedimenti che si trovano in acque poco profonde e che in estate si scaldano velocemente sono la condizione ideale per favorire la metilazione e così pure le condizioni di anossia, che possono verificarsi durante i mesi più caldi (Gilmour *et al.*, 1992). Al contrario temperature più rigide favoriscono la demetilazione (Randall *et al.*, 1993).

Nei sedimenti il mercurio è generalmente associato alla frazione fine (argillosa) e manifesta una forte tendenza a complessarsi con il materiale organico, in particolare gli acidi umici. Inoltre, soprattutto nei sedimenti marini e in quelli lagunari, la biodisponibilità del mercurio è fortemente influenzata dalla presenza di solfuri. Infatti si ritiene che in presenza di solfuri il mercurio sia immobilizzato nei sedimenti come solfuro di mercurio, la cui solubilità in acqua è estremamente bassa (Fabbri *et al.*, 2003).

Acqua e sedimenti hanno tipicamente basse concentrazioni di metilmercurio. Concentrazioni elevate possono essere trovate nel pesce in seguito a bioaccumulo. Infatti il mercurio ci accumula lungo la catena ali-

mentare partendo da pochi ppb in alghe e plancton magnificando con concentrazioni relativamente più elevate in pesci ittiofagi (Potter *et al.*, 1975; Sorenson *et al.*, 1990). L'accumulo può avvenire attraverso l'acqua, ma è predominante quello attraverso il cibo (Phillips e Buhler, 1978). Le abitudini alimentari del pesce possono avere un effetto sull'accumulo. Pesci ittiofagi hanno normalmente livelli più elevati di mercurio rispetto a pesci planctivori (Phillips *et al.* 1980). Nel presente studio, al tempo 2 (Figura 4-28), si osservano concentrazioni più elevate per *E. encrasicolus*, *S. scombrus* e *S. pilchardus* rispetto a fito e zooplancton. Maggiori concentrazioni di contaminante in *C. gallina* rispetto a *M. galloprovincialis* potrebbe essere in relazione con la filtrazione che nel primo caso avviene a stretto con-

tatto con i sedimenti e nel secondo sulla colonna d'acqua.

Come per gli altri due metalli, anche nel caso del mercurio, il rapporto di EEA 2/2003 (Green *et al.*, 2003) riporta un trend decrescente (nello spazio temporale 1984-2000). Il rapporto ISTISAN 98/11 (Cubadda *et al.*, 1998) riporta: "I pesci predatori sono caratterizzati da tenori di questo elemento superiori a quelli normalmente riscontrati negli altri pesci. Per squali è possibile individuare un livello medio di mercurio intorno a 0,40-0,45 mg/Kg. I dati su tonni e razze sono meno numerosi; per i primi i valori medi si collocano nel range 0,41-0,82 mg/kg, per le seconde sono pari a circa 0,30 mg/Kg. I cupeidi, pesci pelagici e planctofagi, presentano di contro contenuti medi di mercurio variabili intorno a 0,10-0,15 mg/kg".

5. Microinquinanti organici

Con il termine inquinanti organici persistenti (POP) le attuali tendenze scientifiche ambientali individuano famiglie di composti organici chimicamente stabili, caratterizzati da una marcata tossicità e da lunghi “tempi di vita” nell’ambiente. I POP più conosciuti sono i policlorobifenili (PCB), le policlorodibenzodiossine (PCDD) i policlorodibenzofurani (PCDF), i pesticidi organo clorurati (POC, fra cui il DDT), gli idrocarburi policiclici aromatici (IPA) e esaclorobenzene (HCB).

5.1. Composti presi in esame

5.1.1. Policlorodibenzodiossine, policlorodibenzofurani

Il termine “diossine” si riferisce ad un gruppo di 210 composti chimici aromatici, tricyclici e planari con grado di clorurazione variabile da 1 a 8 (Figura 5-1). Simili per struttura e per caratteristiche chimico fisiche sono sostanze inodori, termostabili, insolubili in acqua e fortemente liposolubili. Nei sedimenti si legano alla frazione organica presente e, una volta adsorbite, rimangono relativamente immobili; a causa della loro insolubilità in acqua non tendono a mi-

grare in profondità. Pur essendo scarsamente idrosolubili, trovano nell’acqua un’ottima via di diffusione una volta adsorbite sulle particelle minerali ed organiche presenti in sospensione che trasportate dalle correnti atmosferiche, in misura minore, dai fiumi e dalle correnti marine, rendono possibile la contaminazione di luoghi lontani dalle sorgenti di emissione. L’ingresso delle diossine nella rete alimentare acquatica avviene, quindi soprattutto, ad opera del particolato (deposizione secca e umida, erosione, scarichi, ecc.) che è trasferito nell’ambiente acquatico (Pizzin e Bentley, 2006).

Il gruppo si divide in due famiglie la prima composta da 75 congeneri che hanno struttura chimica simile a quella della policlorodibenzodiossina (PCDD) e la seconda costituita da 135 congeneri che hanno struttura simile al policlorodibenzofurano (PCDF); 17 di questi congeneri (Tabella 5-1), aventi da 4 a 8 atomi di cloro ed almeno le posizioni 2,3,7,8 clorosostituite sono considerati tossicologicamente rilevanti in quanto hanno evidenziato attività cancerogena simile a quella causata dalla 2,3,7,8 tetraclorodibenzodiossina, cancerogeno di Classe I per la IARC (International Agency for Research on Cancer).

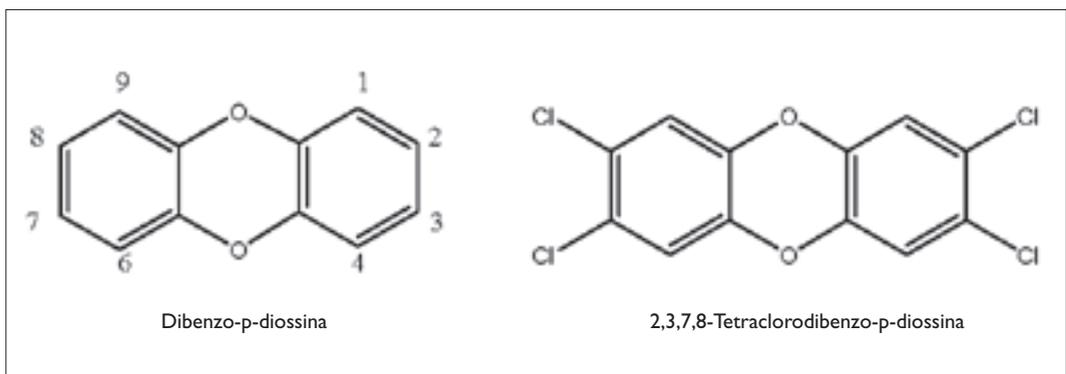


Figura 5-1 Dibenzo-p-diossina e 2,3,7,8-Tetraclorodibenzo-p-diossina (TCDD). Nella struttura della dibenzo-p-diossina la numerazione fa riferimento agli atomi di carbonio a cui è legato un atomo di idrogeno; i nomi dei derivati sono basati sugli atomi di carbonio su cui altri gruppi hanno sostituito gli atomi di idrogeno.

PCDD, PCDF e PCB esistono nelle varie matrici ambientali come miscele molto complesse di vari congeneri le cui concentrazioni relative cambiano con i passaggi attraverso i vari livelli trofici. Questi cambiamenti riguardano la degradazione e il destino ambientale selettivo, che dipende da vari fattori tra cui differenti solubilità, volatilità e velocità di metabolismo. Come risultato queste miscele si diversificano nel tempo e nello spazio variando la composizione delle miscele originali che erano entrate nell'ambiente.

Questo aspetto rende molto difficile la valutazione del rischio per l'uomo e per altre specie animali esposte a queste miscele

nell'ambiente; per risolvere il problema è stato introdotto il concetto di "toxic equivalent factor" (TEF) che facilita la valutazione del rischio in quanto riporta ad un unico numero il valore di tossicità di miscele complesse espresso in "toxic equivalent concentration" (TEQ).

I TEF si basano sulla considerazione che PCDD e PCDF sono composti strutturalmente simili che presentano il medesimo meccanismo di azione (attivazione del recettore Ah, Figura 5-2) e producono effetti tossici; proprio il legame tra le diossine e il recettore Ah è il passo chiave per il successivo innescarsi degli effetti tossici (Pizzin e Bentley, 2006).

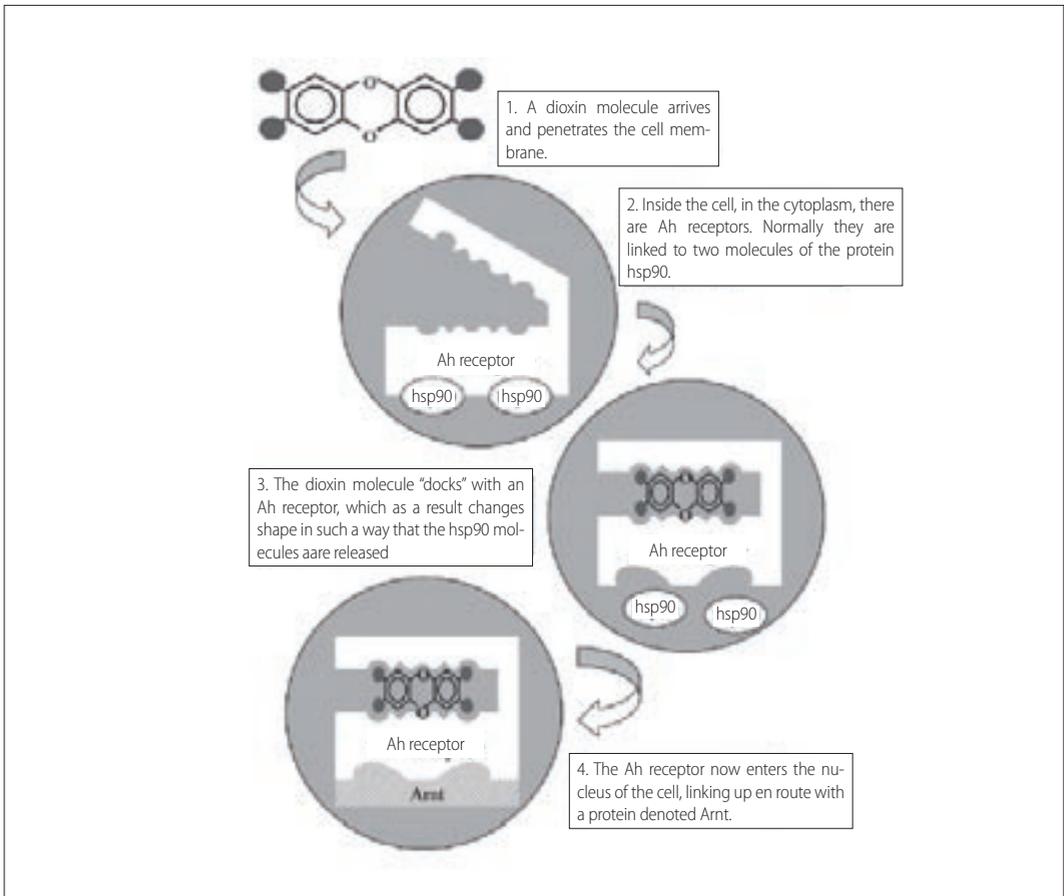


Figura 5-2 Interazione che avviene all'interno del citoplasma fra la molecola di diossina e il recettore Ah.

Per calcolare il TEQ vengono utilizzati due sistemi: WHO-TEF per matrici alimentari (WHO-TEF 1998 e aggiornamento del 2005) e I-TEF per matrici ambientali (EPA 1989) (Tabella 5-1). I valori di TEF moltiplicati per i dati di concentrazione, relativi al peso fresco, dei PCDD e PCDF contenuti nei campioni analizzati, sono usati per calcolare gli equivalenti di tossicità TEQ (Esempio: un H6CDD con TEF=0,1 significa che ha tossicità 10 volte inferiore rispetto a quella della 2,3,7,8 TCDD che ha TEF=1). Tale valore può essere completato sommando anche il TEQ dei 12 PCB-WHO (Tabella 5-2) con la seguente equazione:

$$TEQ = \sum_{i=1}^7 (PCDD)_i \times TEF_i + \sum_{j=1}^{11} (PCDF)_j \times TEF_j + \sum_{k=1}^{12} PCB_k \times TEF_k$$

Le policlorodibenzodiossine e i policlorodibenzofurani non sono prodotti industriali, ma sottoprodotti indesiderati di reazioni chimiche, termiche (incompleta combustione di materiale organico alla presenza di cloro), fotochimiche ed enzimatiche. Si trovano come impurezze in prodotti commerciali di sintesi industriale quali fenossie erbicidi, battericidi come esaclorofene, clorofenoli e i suoi sali che vengono impiegati nella conservazione del legno, nella manifattura della carta e nella lavorazione del cuoio. Sono inoltre presenti nei Policlorobifenili

Congenero	EPA-1989 I-TEF	WHO 1998 TEF*	WHO 2005 TEF*
Policlorodibenzodiossine			
2,3,7,8 TCDD	1	1	1
1,2,3,7,8 P5CDD	0,5	1	1
1,2,3,4,7,8 H6CDD	0,1	0,1	0,1
1,2,3,6,7,8 H6CDD	0,1	0,1	0,1
1,2,3,7,8,9 H6CDD	0,1	0,1	0,1
1,2,3,4,6,7,8 H7CDD	0,01	0,01	0,01
OCDD	0,001	0,0001	0,0003
Policlorodibenzofurani			
2,3,7,8 T4CDF	0,1	0,1	0,1
1,2,3,7,8 P5CDF	0,05	0,05	0,03
2,3,4,7,8 P5CDF	0,5	0,5	0,3
1,2,3,4,7,8 H6CDF	0,1	0,1	0,1
1,2,3,6,7,8 H6CDF	0,1	0,1	0,1
1,2,3,7,8,9 H6CDF	0,1	0,1	0,1
2,3,4,6,7,8 H6CDF	0,1	0,1	0,1
1,2,3,4,6,7,8 H7CDF	0,01	0,01	0,01
1,2,3,4,7,8,9 H7CDF	0,01	0,01	0,01
OCDF	0,001	0,0001	0,0003

Tabella 5-1 Congeneri considerati tossicologicamente rilevanti. WHO 1998 TEF e WHO 2005 TEF rappresentano i fattori di tossicità equivalente (*Van den Berg et al., 2006).

Congenero	WHO 1998 TEF	WHO 2005 TEF
Non orto PCB		
PCB 77	0,0001	0,0001
PCB 81	0,0001	0,0003
PCB 126	0,1	0,1
PCB 169	0,01	0,03
Mono orto PCB		
PCB 105	0,0001	0,00003
PCB 114	0,0005	0,00003
PCB 118	0,0001	0,00003
PCB 123	0,0001	0,00003
PCB 156	0,0005	0,00003
PCB 157	0,0005	0,00003
PCB 167	0,00001	0,00003
PCB 189	0,0001	0,00003

Tabella 5-2 PCB Dioxin like e valori di fattori di tossicità equivalente (Van den Berg *et al.*, 2006).

impiegati come fluidi isolanti nei trasformatori e nei condensatori e come lubrificanti in impianti off-shore.

Attualmente le principali fonti d'immissione di diossine nell'ambiente sono da attribuire, per circa il 62%, ai processi di incenerimento dei rifiuti urbani, ospedalieri e industriali (Figura 5-3), agli impianti metallurgici (rame, alluminio, piombo), sintesi di pigmenti e coloranti, alla preparazione d'intermedi della carta (pasta di cellulosa) e alla produzione di PVC.

Un report prodotto per la Commissione Europea nel 1999 (Fiedler, 1999), fa il punto della situazione in Europa e riporta la concentrazione di diossine nei diversi comparti ambientali e in altre matrici. Il consumo di prodotti alimentari è la principale via di esposizione delle persone a queste sostanze. È noto infatti che l'uomo assume la maggior parte delle diossine (circa 97%) per

via alimentare, in particolare, attraverso gli alimenti di origine animale (circa 99% delle diossine si concentrano nei grassi degli animali da carne, nelle uova, nel latte, e nel pesce), mentre altre fonti quali: l'aria, il suolo e l'acqua veicolano quantità esigue di questi composti. La contaminazione degli alimenti può essere determinata da alti livelli di contaminazione nell'ambiente di allevamento o nell'ambiente naturale di crescita (ittiofauna), dal contenuto nei mangimi o da contaminazioni accidentali (diossina nei polli Belgio 1999). Studi sugli effetti tossici della TCDD ai diversi livelli di esposizione sono stati condotti su numerose specie animali. Sono invece limitate le informazioni tossicologiche relative all'uomo; queste sono per lo più inerenti a studi condotti in seguito ad esposizioni accidentali o legate a rischi professionali (Raccanelli, 2004). A questo proposito sussistono, in ambito scientifico,

numerose controversie tra coloro che sostengono l'esistenza di effetti biologici non trascurabili nell'uomo e coloro che invece sostengono la mancanza di evidenze sperimentali in proposito. Risultati più o meno controversi si sono avuti per quanto riguarda la cancerogenicità, la teratogenicità, gli effetti sul feto e sulla natalità e presunti effetti sul sistema endocrino e immunitario (Raccanelli, 2004). Tuttavia la maggior parte della comunità scientifica e la stessa EPA sono concordi nell'affermare che l'insieme dei dati epidemiologici disponibili e in via di acquisizione, e dei dati tossicologici acquisiti in studi di laboratorio fornisce una ragionevole correlazione tra l'esposizione a TCDD e l'insorgenza di tumori (Raccanelli, 2004).

Nel tessuto umano sono stati riscontrati i seguenti composti: 2,3,7,8-TCDD, 1,2,3,7,8 PCDD, 1,2,3,6,7,8-Hx CDD, 2,3,4,7,8-PCDF, PCB 126, che rappresentano l'80% del totale TEQ (Pizzin e Bentley, 2006).

La 2,3,7,8-TCDD è stata classificata cancerogena del primo gruppo nel 1997, come riportato nel volume 69 dello IARC; come dose tollerabile giornaliera (quantità giornaliera, assunta per via alimentare o altro, accettabile dall'organismo senza che vi siano pericoli per la salute) l'OMS nel 1998 a Ginevra, ha stabilito un limite tra 1 e 4 pg WHO-TEQ/Kg di peso corporeo. L'obiettivo che si propone l'OMS è arrivare ad una ingestione al di sotto di 1 pg WHO-TEQ/Kg di peso corporeo al giorno. Il Comitato scientifico dell'Alimentazione Umana (SCF) ha adottato in data 30 maggio 2001 un parere sulla valutazione dei rischi da diossina e PCB Diossina simili dei prodotti alimentari. Il comitato ha stabilito un valore cumulativo per la dose tollerabile settimanale (Tolerable Weekly Intake, TWI) di diossina pari a 14 pg WHO-TEQ/Kg di peso corporeo. Dati recenti e rappresentativi sull'assunzio-

ne giornaliera indicano che i valori medi di diossine e PCB diossina-simili assunti con la dieta alimentare nell'UE sono compresi tra 1,2 e 3 pg WHO-TEQ/Kg di peso corporeo/giorno, il che significa che una certa parte della popolazione europea si troverebbe ancora al di sopra del limite della dose tollerabile giornaliera e settimanale.

Nella comunicazione 2001/C 322/02 pubblicata nella G.U.C.E. C 322/2 del 17.11.2001 è descritta la "Strategia comunitaria sulle diossine, furani e i bifenili policlorurati". In questo documento vengono descritti i problemi connessi all'esposizione di questi contaminanti, gli effetti sulla salute umana e sull'ambiente, i traguardi raggiunti nei vari campi per ridurre le emissioni e sono enunciati gli obiettivi fissati: da una parte la riduzione della presenza di diossine e PCB nel cibo e nei mangimi, e dall'altra la riduzione di questi stessi composti nell'ambiente. La prima parte di questa strategia è regolata principalmente da misure legislative che definiscono livelli massimi, limiti di attenzione e obiettivi a lungo termine per cibi e mangimi. La seconda invece propone la definizione di limiti alle emissioni dei diversi settori produttivi e industriali, assieme allo sviluppo di procedure per promuovere e migliorare la disponibilità di dati ambientali (attendibili e confrontabili) riguardanti sia le emissioni che i diversi comparti ambientali.

Nonostante il Comitato Scientifico per gli Alimenti affermi che una parte considerevole della popolazione europea introduca una quantità di queste sostanze superiore al limite massimo giornaliero, si è arrivati alla conclusione che non necessariamente vi è un rischio apprezzabile per la salute del singolo individuo, dal momento che la dose tollerabile fissata (TWI) prevede un fattore di sicurezza. Tuttavia, il superamento del TWI, determina una progressiva perdita della protezione introdotta con il limite di sicurezza.

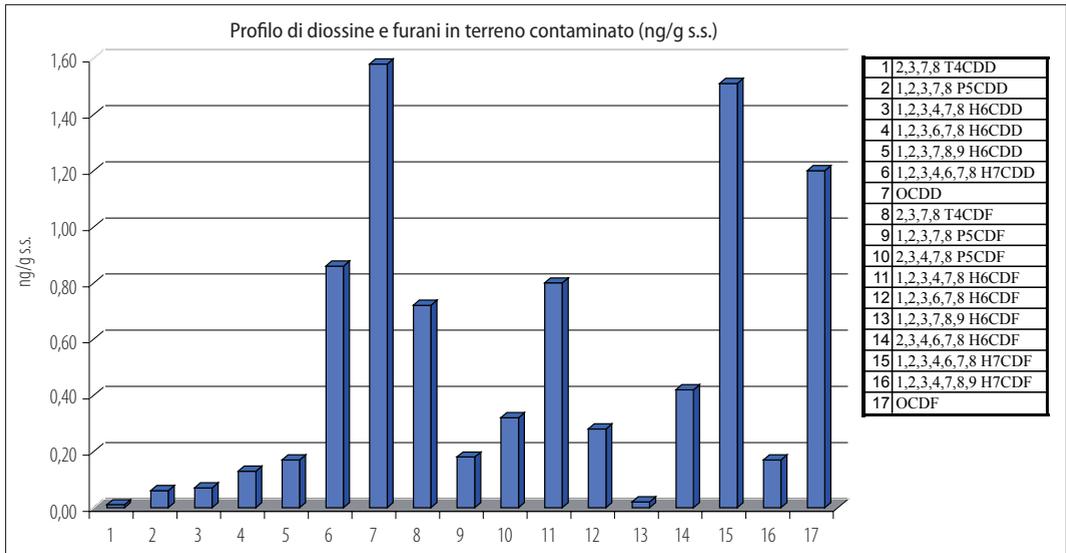


Figura 5-3 Profilo delle diossine di un campione contaminato prelevato in prossimità di un forno inceneritore (Archivi dell'Area Analitica Microinquinanti del Dipartimento Tecnico dell'ARPA di Ravenna).

Va precisato che l'introduzione con la dieta di questi contaminanti nella popolazione europea presenta un'ampia variabilità, a causa delle diverse abitudini alimentari e dei diversi tipi di approvvigionamento. Per esempio, una dieta costituita principalmente da pesce proveniente da zone ad alta contaminazione del Mar Baltico, è attualmente molto più "a rischio" di quella variata del Sud Europa (Raccanelli, 2004).

5.1.2. Policlorobifenili.

I policlorobifenili (PCB) costituiscono una classe di 209 composti aventi da 1 a 10 atomi di cloro come sostituenti nella molecola del bifenile. La classe di questi 209 composti a sua volta si suddivide in 10 classi isomeriche con uguale numero di atomi di cloro chiamati congeneri (Tabella 5-3).

Tutti i congeneri sono stati classificati da Ballschmimer e Zell con un numero in ordine crescente da 1 a 209 (nomenclatura International Union of Pure and Applied Chemistry).

Per le loro proprietà fisiche (ininflammabilità, bassa volatilità, elevata stabilità, inerzia, resistenza al calore ed elevata costante dielettrica) i PCB sono adatti a numerosi impieghi industriali come dielettrici per trasformatori e condensatori, fluidi idraulici, lubrificanti, vernici, plastificanti, oli da taglio, etc.

Aroclor è il nome commerciale statunitense di una miscela con diversi congeneri. Per esempio Aroclor 1260 indica presenza di un bifenile (12=atomi di carbonio) e 60 è la % di cloro nella miscela.

Vista la pericolosità ambientale e la tossicità, forse cancerogenicità, per l'uomo, nel 1985 sono state vietate la commercializzazione e l'utilizzo nei vari settori (industria e agricoltura) tuttavia per lo smaltimento improprio e l'elevata persistenza ambientale sono ancora contaminanti molto diffusi.

Fonti di contaminazione, relativamente meno importanti rispetto all'utilizzo che se ne è fatto in passato, sono l'incenerimento dei rifiuti, la concimazione dei terreni con fanghi provenienti dalla depurazione di ac-

Classe isomerica	Formula	Peso mol.	% Cloro	N°. isomeri
mono-CB	C ₁₂ H ₉ Cl	188	18	3
di-CB	C ₁₂ H ₈ Cl ₂	222	31	12
tri-CB	C ₁₂ H ₇ Cl ₃	256	41	24
tetra-CB	C ₁₂ H ₆ Cl ₄	290	48	42
penta-CB	C ₁₂ H ₅ Cl ₅	324	54	46
esa-CB	C ₁₂ H ₄ Cl ₆	358	58	42
epta-CB	C ₁₂ H ₃ Cl ₇	392	62	24
octa-CB	C ₁₂ H ₂ Cl ₈	426	65	12
nona-CB	C ₁₂ HCl ₉	460	68	3
deca-CB	C ₁₂ Cl ₁₀	494	79	1

Tabella 5-3 Classi isomeriche dei PCB. (IRSA-CNR Metodi analitici per le acque; 5090 Policlorobifenili e policloroterfenili).

que di scarico, la combustione di oli usati, le riserve di PCB nei sedimenti marini, fluviali e nei fanghi di dragaggio dei porti.

I PCB sono classificati da IARC nel gruppo dei cancerogeni probabili cioè dei composti con evidenza di cancerogenicità limitata per l'uomo e sufficiente evidenza di cancerogenicità per l'animale. Non sono genotossici ma agiscono come promotori attraverso meccanismi differenti per i vari congeneri (Apostoli 2004). Gli effetti sulla salute non sono ancora completamente noti però sembra che provochino disordini riproduttivi e di sviluppo, danni alle funzioni del sistema immunitario e possono agire inoltre come distruttori endocrini (Apostoli 2004).

Negli anni '90 è stata posta molta attenzione ad alcuni PCB coplanari non ortosostituiti e mono orto sostituiti (Tabella 5-2) definiti diossina-simili che avevano dimostrato effetti biochimici e tossici (paragonabili e quelli di diossine e furani) per reazione con una proteina citoplasmatica, a funzione recettoriale, detta Aryl Hydrocarbon receptor (Ah-R). Un'interazione con l' Ah-R è stata associata ad alterazioni

dell'omeostasi endocrina ed immunitaria. Per questo è stato introdotto il concetto di Fattore di Tossicità Equivalente (TEF) che fornisce la misura della tossicità dei 12 congeneri (PCB dioxin-like) per confronto con la tetraclorodibenzodiossina (TCDD).

L'Autorità europea per la sicurezza alimentare (EFSA) nel 2005 ha pubblicato un parere, del gruppo di esperti sui contaminanti nella catena alimentare (CONTAM), sui policlorobifenili non diossina-simili (NDL-PCB) negli alimenti e nei mangimi. I policlorobifenili, essendo un miscela di sostanze chimiche diverse, in base alle loro proprietà biochimiche e tossicologiche, possono essere suddivisi in due gruppi: i PCB diossina simili (DL-PCB) e i PCB non diossina simili (NDL-PCB). L'esposizione umana ai NDL-PCB avviene per più del 90% attraverso la dieta. Sebbene le concentrazioni di NDL-PCB negli alimenti siano gradatamente diminuite dall' epoca dell' introduzione della normativa ambientale sull'impiego e lo smaltimento dei PCB nell'Unione Europea negli anni '80, l'esposizione umana a questi composti è considerata ancora alta. Pertan-

to il gruppo CONTAM dell'ESFA ha stabilito nel suo parere che è richiesto uno sforzo continuo per abbassare i livelli di NDL-PCB presenti negli alimenti e nei mangimi e che, NDL-PCB pur non essendo né genotossici né cancerogeni, l'esposizione ai PCB produce una serie di effetti avversi quali disturbi neurologici, dello sviluppo e deficit immunitari. Tuttavia, tali effetti sono indotti anche dai composti diossina simili, di gran lunga più potenti, che spesso coesistono con i NDL-PCB. È pertanto difficile determinare l'esatto contributo di questi ultimi.

La tossicità dei DL-PCB è più elevata rispetto alla tossicità dei NDL-PCB e, pertanto, solleva maggiori preoccupazioni dal punto di vista della sicurezza alimentare. I NDL-PCB coesistono con i DL-PCB e ciò rende difficile determinare gli effetti tossicologici reali dei soli NDL-PCB, poiché i risultati dei test sulla tossicità possono essere influenzati dalla presenza di quantità anche minime (0,1% o meno) di DL-PCB. È quindi necessario usare cautela nell'interpretazione dei dati sull'esposizione ai NDL-PCB.

Il parere dell'EFSA (2005) riguardo alla presenza di NDL-PCB in alimenti e mangimi riporta quindi le seguenti conclusioni.

A causa delle loro proprietà lipofile e la loro persistenza nell'ambiente, PCB 138, 153 e 180 sono i congeneri NDL-PCB che si accumulano lungo la catena alimentare. Di conseguenza, le concentrazioni di questi congeneri nei mangimi e negli alimenti di origine animale, in particolare da carnivori e pesci predatori, sono più elevati rispetto ai prodotti di origine vegetale.

I mangimi e i loro componenti, olio di pesce, mangimi per pesci, i pesci e prodotti della pesca sono stati individuati come i prodotti con la più alta contaminazione. Fra i prodotti alimentari, i livelli più elevati di NDL-PCB sono stati trovati in olio di pesce, seguiti da uova, carne e derivati, latte e

prodotti lattiero-caseari, che mostrano tutto lo stesso livello medio di contaminazione. La somma dei sei indicatori PCB (PCB 28, 52, 101, 138, 153 e 180) rappresenta circa la metà della quantità totale di NDL-PCB riscontrati nei mangimi e negli alimenti. Pertanto, la somma dei sei indicatori di PCB è considerata un indicatore di presenza e di esposizione umana ai NDL-PCB.

Anche dall'osservazione dei dati del presente lavoro si può desumere questa relazione. La sommatoria dei sei PCB indicatori (PCB 28, 52, 101, 138, 153 e 180) rappresenta, per tutti i campioni di biota analizzato nei due tempi di indagine, circa il 50% dei PCB totali ricercati (PCB-28, 52, 95, 99, 101, 105, 110, 118, 138, 146, 149, 151, 153, 170, 177, 180, 183, 187) Figura 5-4.

Poiché la principale via di esposizione per l'uomo a NDL-PCB avviene attraverso gli alimenti, recenti studi sulla dieta indicano che per gli adulti, della maggior parte dei paesi europei l'assunzione giornaliera media del totale NDL-PCB è nel range di 10-45 ng/kg peso corporeo. Per bambini fino a sei anni di età (escluso l'allattamento), l'assunzione giornaliera di NDL-PCB totali è di circa 27-50 ng/kg peso corporeo.

L'esposizione ai NDL-PCB da aria (ambiente, indoor), la polvere e il suolo contribuiscono solo per poche unità percentuali sul "body burden" (carico di inquinanti nel corpo umano). Negli edifici in cui i PCB sono stati utilizzati le concentrazioni indoor di PCB sono spesso elevate. Questo porta ad una maggiore esposizione dei PCB a basso contenuto di cloro in quanto più volatili.

A causa delle diverse fonti di contaminazione, delle diverse provenienze dei mangimi e degli alimenti, come pure dei diversi metodi di produzione e delle diverse circostanze, solamente in pochi casi, dove si riscontrava una ben definita contaminazione o per campioni provenienti da una specifica area geografica,

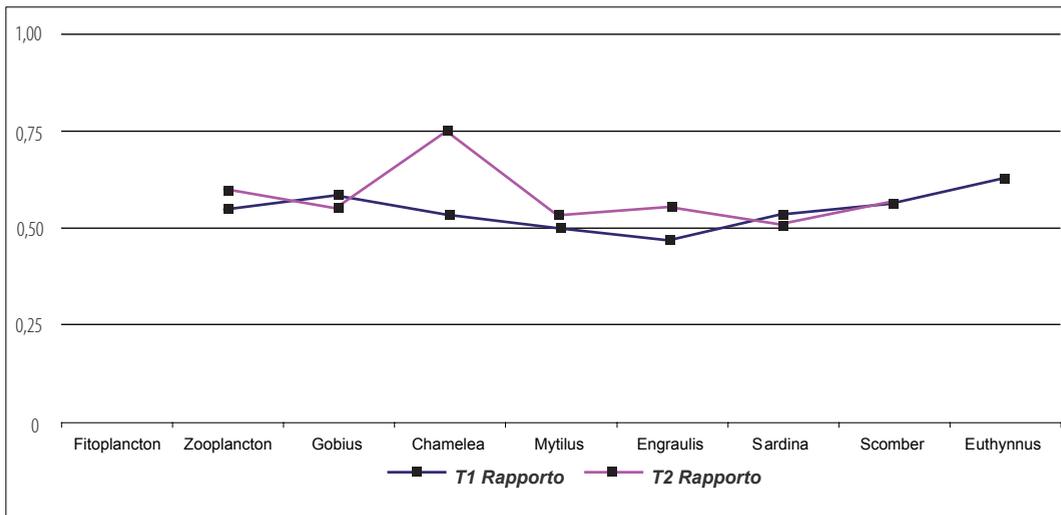


Figura 5-4 Andamento dei rapporti fra le sommatorie dei 6 PCB indicatori e i totali determinati.

è stata trovata una relazione tra i NDL-PCB e il TEQ totale (DL PCB+PCDD/DF).

Di solito, i campioni contenenti alti livelli di NDL-PCB contengono anche elevati livelli di DL PCB e PCDD-PCDF. In queste circostanze la valutazione del rischio mirata a ridurre il TEQ totale, probabilmente tutelerà i consumatori anche da elevate esposizioni a NDL-PCB.

Riguardo all'interpretazione degli effetti sulla salute è stato dimostrato che determinare più congeneri in matrici biologiche, non fornisce informazioni aggiuntive rispetto alla determinazione di un singolo congenere che li rappresenti (tracciante). A questo riguardo viene suggerito il congenere 153 che potrebbe essere rappresentativo dei congeneri 138, 153, 156, 157, 170, 183, 187, 194, 199, 203 (Apostoli 2004).

Poiché i PCB sono liposolubili e soggetti a bioaccumulo possono indurre effetti negativi sui vari organismi ed arrivare all'uomo. L'assunzione di latte e latticini contaminati da diossine e PCB rappresenta approssimativamente il 37% dell'esposizione dell'uomo a queste sostanze, tuttavia una percentuale

apprezzabile del totale deriva dall'assunzione di carni bovine (14%), suine (5%) e di pesce e prodotti a base di pesce (26% di cui 19% di acqua dolce ed il 7% di mare), oli di origine vegetale (6%), la restante percentuale suddivisa con uova carni di pollo e altre carni (EFSA, 2004).

Nell'ambiente gli isomeri con maggiore numero di atomi di cloro sono generalmente più stabili mentre quelli a più basso livello di clorurazione sono soggetti ad una lenta degradazione perché vengono metabolizzati. La solubilità lipidica aumenta all'aumentare del grado di clorurazione e promuove l'assorbimento attraverso la pelle, i polmoni ed il tratto gastrointestinale (Lotti 2004).

L'assorbimento e la cinetica di depurazione, negli organismi acquatici dei PCBs non-orto sostituiti, differiscono dagli altri congeneri. Ciò che distingue i congeneri non-orto sostituiti (PCB 2-3-11-12-13-14-15-35-36-37-38-39-77-78-79-80-81-126-169) dagli altri è l'elevata capacità di adsorbimento e quindi di penetrazione delle pareti cellulari.

La distribuzione ambientale e la trofodinamica di mono e non-orto PCBs possono

differire da altri PCB omologhi. Le concentrazioni dei contaminanti organici, nel biota acquatico, dipendono dall'efficienza di assorbimento dall'acqua, efficienza di assimilazione dal biota, e tasso di escrezione che sono strettamente correlate al coefficiente di ripartizione ottanolo-acqua, K_{ow} delle sostanze chimiche.

In base al modello di Thomann (1989), che si basa principalmente sul K_{ow} , la biomagnificazione attraverso la rete alimentare avviene per composti che hanno il valore $\log K_{ow}$ compreso fra 5 e 7.

Un aspetto importante della trofodinamica dei PCBs è il tasso di rimozione dei vari congeneri dai componenti biotici della rete alimentare. La rimozione dei PCBs dagli organismi animali può avvenire attraverso due vie, la prima metabolica e la seconda non metabolica. Il tasso di rimozione dei congeneri attraverso la via non metabolica è inversamente proporzionale al loro K_{ow} . Il tasso di rimozione attraverso la via metabolica invece è parzialmente dipendente dalla formula di struttura dei diversi congeneri e quindi dalle posizioni orto, meta e para occupate dagli atomi di cloro.

Il primo passaggio del metabolismo dei PCBs è la formazione dei due legami singoli fra un atomo di ossigeno e due atomi di carbonio adiacenti dell'anello benzenico. Questa reazione, catalizzata da monoossigenasi, porta alla formazione di un PCBs idrolizzato e

molto più polare del composto di partenza. Affinché la reazione di metabolizzazione possa avvenire, la molecola di PCB, deve avere almeno due carboni adiacenti legati a idrogeni ("atomi di idrogeni vicini") non sostituiti da cloro. Le regioni possibili possono essere in posizione meta-para oppure orto-meta (Figura 5-5)

Il sistema monoossigenasi di foche e uccelli marini metabolizza velocemente tutti i congeneri dei PCBs con atomi di H vicini in posizione meta e para. Tuttavia ci sono evidenze che i cetacei non riescano a metabolizzare congeneri di PCB con idrogeni vicini in meta e para se ci sono 2, 3 o 4 atomi di cloro in posizione orto (Metcalf e Metcalf, 1997). Quindi posizione di idrogeni vicini e numero di clori che occupano le posizioni orto, sembrano essere due variabili importanti che governano il tasso metabolico e di rimozione dei congeneri di PCBs dal biota. PCBs con idrogeni non vicini in posizione meta-para o orto-meta come PCB 153 (Figura 5-6), oppure congeneri con idrogeni vicini in orto-meta e numero di atomi di cloro in posizione orto maggiori o uguali a 2, es. PCB 99 (Figura 5-7), sono generalmente molto persistenti in tutte le specie.

Congeneri con idrogeni orto-meta vicini e un cloro in posizione orto, es. PCB 118 (Figura 5-8) non sono persistenti in mammiferi marini e uccelli. Quindi il tasso di ri-

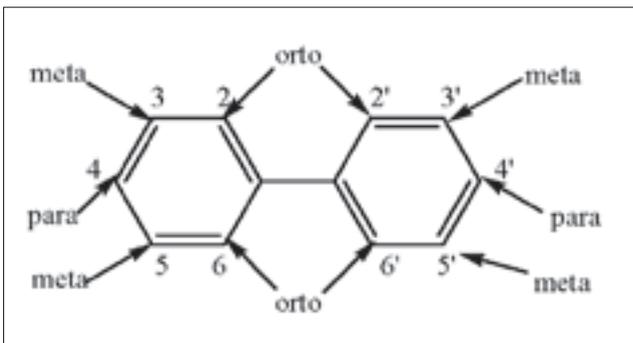


Figura 5-5 Sistema di numerazione delle sostituzioni del cloro per i congeneri dei PCB e posizioni orto meta e para.

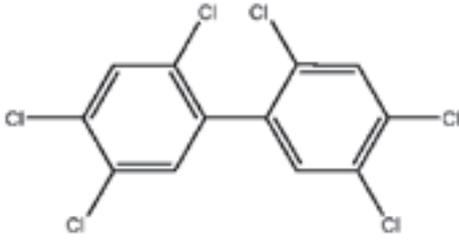


Figura 5-6

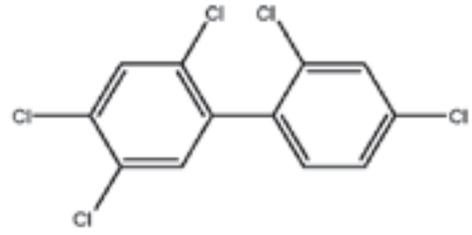


Figura 5-7

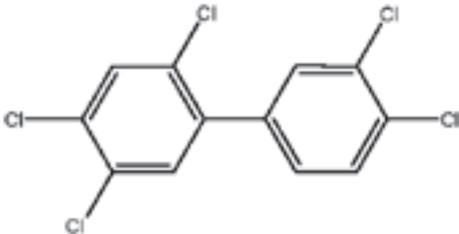


Figura 5-8

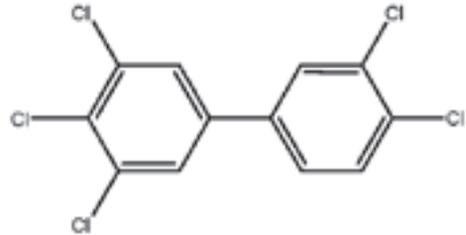


Figura 5-9

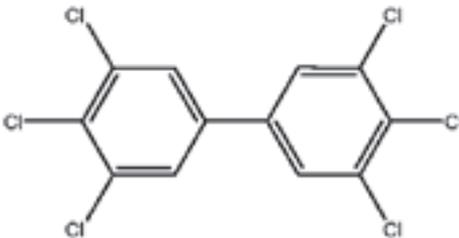


Figura 5-10

Figura 5-6 PCB 153 (2,2',4,4',5,5'-esaclorobifenile).
 Figura 5-7 PCB 99 (2,2',4,4',5-pentacloribifenile).
 Figura 5-8 PCB 118 (2,3',4,4',5-pentacloribifenile).
 Figura 5-9 PCB 126 (3,3',4,4',5-pentacloribifenile).
 Figura 5-10 PCB 169 (3,3',4,4',5,5'-esaclorobifenile).

mozione attraverso la via metabolica dipende oltre che dalla formula di struttura dei diversi congeneri anche dalle diverse specie o taxa (Boon, 1994).

Per l'uomo, i tetra e pentacloro bifenili con atomi di carbonio adiacenti non sostituiti in posizione meta-para sono rapidamente eliminati dal sangue, i PCBs con lo stesso livello di clorurazione, ma con atomi di carbonio adiacenti non sostituiti in posizione orto-meta, sono eliminati più lentamente. La maggior parte dei PCB ad elevata clorurazione (esa ed eptaclorobifenili) con atomi di carbonio adiacenti non sostituiti in posizione orto-meta sono eliminati molto lentamente. Non va trascurata la notevole variabilità in-

ter-individuale (Lotti, 2004). La maggior parte dei PCB tossici coplanari e mono orto coplanari sono metabolizzati lentamente (Lotti, 2004). La tossicità dei vari congeneri è molto diversa: i congeneri che mancano di atomi di cloro in posizione orto, ma con le posizioni meta e para sostituite, sono considerati essere i più tossici per i mammiferi, es. PCB126 (Figura 5-9) e PCB169 (Figura 5-10). Per altri organismi la tossicità avviene con meccanismi diversi e perciò i congeneri presentano fattori di tossicità diversi per le diverse specie (Tabella 5-4).

Negli anni '80 l'analisi dei PCB riguardava essenzialmente Aroclor singoli o in miscela, sia per l'identificazione che per la quantificazione. Con gli anni la volatilizzazione e/o

Congenere	WHO 1994 TEF (1)	WHO 1998 TEF (2)	WHO 1998 TEF	WHO 1998 TEF	WHO 2005 TEF (2)
		Uomo- mammiferi	Pesci	Uccelli	Uomo- mammiferi
Non orto PCB					
PCB 77	0,0005	0,0001	0,0001	0,05	0,0001
PCB 81	-	0,0001	0,0005	0,1	0,0003
PCB 126	0,1	0,1	0,005	0,1	0,1
PCB 169	0,01	0,01	0,000005	0,001	0,03
Mono-orto PCB					
PCB 105	0,0001	0,0001	<0,000005	0,0001	0,00003
PCB 114	0,0005	0,0005	<0,000005	0,0001	0,00003
PCB 118	0,0001	0,0001	<0,000005	0,00001	0,00003
PCB 123	0,0001	0,0001	<0,000005	0,00001	0,00003
PCB 156	0,0005	0,0005	<0,000005	0,0001	0,00003
PCB 157	0,0005	0,0005	<0,000005	0,0001	0,00003
PCB 167	0,00001	0,00001	<0,000005	0,00001	0,00003
PCB 189	0,0001	0,0001	-	-	0,00003
Di-orto PCB					
PCB 170	0,0001	-	-	-	-
PCB 180	0,00001	-	-	-	-

Tabella 5-4 Valori di TEF proposti dalla WHO.
(1) Ahlborg e Hanberg (1994) - (2) Van den Berg *et al.* (2006)

la degradazione di alcuni congeneri ha portato a modificare il finger print e per questo, limitare l'analisi alla miscela di Aroclor, può portare a commettere errori.

PCB 77-81-126-169 sono 4 non-orto coplanari, PCB 105-114-118-123-156-157-167-189 sono mono-orto e PCB 170-180 sono di-orto sostituiti.

Questi PCB rappresentano i congeneri più tossici ma la loro presenza nell'ambiente e negli alimenti si riscontra a livelli estremamente bassi. Per questo motivo in questo lavoro si è ritenuto di prendere in esame la serie di congeneri che l'Istituto Superiore di Sanità, nel 2003 aveva proposto di

ricercare (La Rocca *et al.*, 2002 - ISTISAN 02/38) nelle diverse matrici alimentari; PCB 28, 52, 95, 101, 99, 110, 151, 149, 118, 146, 153, 105, 138, 187, 183, 177, 180 e 170 in quanto rappresentano oltre l'80% dei PCB totali contenuti in un alimento provenienti da contaminazioni di miscele commerciali. Attualmente, presso ARPA Emilia Romagna-Sezione di Ravenna laboratorio Microinquinanti i quattro PCB non orto coplanari vengono sempre ricercati contestualmente alle diossine. Nelle matrici ambientali, il congenere PCB-77 è quello più frequentemente riscontrato.

5.1.3. Idrocarburi policiclici aromatici.

Gli IPA sono soprattutto noti come prodotti tossici indesiderati dell'attività umana e vengono generati invariabilmente nella combustione incompleta del materiale organico. La loro formazione può avvenire anche in natura in seguito a processi di trasformazione geochimica delle biomolecole e si ritrovano fra i componenti chimici dei petroli e dei carboni.

Gli IPA generati nei processi ad elevata temperatura (combustione, pirolisi) sono detti IPA pirogenici, mentre quelli presenti nel petrolio e derivati sono detti petrogenici. Anche se ci sono fonti naturali di IPA, quali il trasudamento di piccole quantità di idrocarburi dalle rocce del fondale marino, gli incendi boschivi, le eruzioni vulcaniche, la loro fonte principale nell'ambiente è di origine antropica (Baek *et al.*, 1991; Mastral e Callèn, 2000). Le maggiori attività umane, responsabili dell'emissione di IPA pirogenici, includono l'uso degli autoveicoli, le produzioni industriali (Carbon coke, nerofumo, alluminio), il riscaldamento domestico, la produzione di energia elettrica. Il gradiente termico delle combustioni determina la volatilizzazione di una frazione degli IPA e l'innalzamento nell'aria del materiale particolato composto di IPA o di IPA adsorbiti su particelle di carbone. Le piccole combustioni, esempio i motori delle automobili, creano solo un problema di inquinamento locale. Sono invece le grandi combustioni, industriali o delle centrali termoelettriche, che possono far sì che il particolato ascenda anche a più di un chilometro di altezza e complici le condizioni meteorologiche ne segue una diffusione che interessa aree molto estese e quindi anche il mare.

Gli IPA pirogenici che finiscono nelle acque marino costiere (per deposizione atmosferica, run-off urbano, ecc.) si accumulano nei

sedimenti, mescolandosi con IPA di altre fonti. Gli IPA petrogenici finiscono nell'ambiente a causa della movimentazione dei combustibili fossili (sversamenti accidentali di petrolio, attività portuali) (Fabbri e Vasura, 2003).

Gli IPA di origine petrogenica contengono numerosi sostituenti alchilici e nel caso in cui siano possibili diversi isomeri si formano preferibilmente quelli termodinamicamente stabili. Al contrario gli IPA che si formano a più alta temperatura (pirogenici) presentano poche sostituzioni alchiliche, la concentrazione aumenta con il peso molecolare del composto e prevalgono gli isomeri cineticamente favoriti che si formano più velocemente (Simpson *et al.*, 1995).

Chimicamente gli IPA sono composti organici con più anelli aromatici condensati. Sono quindi possibili un certo numero di isomeri in funzione di come avvengono le condensazioni sugli anelli benzenici. In generale sono liposolubili, poco volatili, eccetto quelli più leggeri, chimicamente piuttosto inerti e quindi relativamente poco tossici (Menichini e Rossi, 1994). La IARC riporta la suddivisione dei vari IPA in probabili cancerogeni, possibili cancerogeni e promotori tumorali sulla base degli studi su varie specie animali, per diverse vie di somministrazione e con indicazione del sito di comparsa del tumore. Gli IPA classificati come probabili o possibili cancerogeni sono: benzo [a] pirene, dibenzo [ah] antracene, indeno [1,2,3-cd] pirene, benzo [j] fluorantene, benzo [b] fluorantene, benzo [k] fluorantene, benzo [a] antracene, dibenzo [a,e] pirene, dibenzo [a,h] pirene, dibenzo [a,i] pirene, dibenzo [a,l] pirene, 5-metilcrisene (Bocca *et al.*, 2003).

Sono stati emessi una serie di pareri da parte di gruppi di esperti scientifici, in particolare sui contaminanti nella catena alimentare (EFSA-Q-2007-136 adottato il 9 giugno 2008), nell'ultimo decennio gli IPA sono sta-

ti valutati nell'ambito dell'IPCS (programma internazionale sulla sicurezza chimica), dal Comitato scientifico dell'alimentazione umana (SCF) e dal Comitato misto FAO/OMS di esperti per gli additivi alimentari (JECFA). L'SCF ha concluso che 15 IPA — ovvero benz[a]antracene, benzo[b]fluorantene, benzo[j]fluorantene, benzo[k]fluorantene, benzo[ghi]perilene, benzo[a]pirene, ciclopenta[cd]pirene, crisene, dibenz[a,h]antracene, dibenzo[a,e]pirene, dibenzo[a,h]pirene, dibenzo[a,i]pirene, dibenzo[a,l]pirene, indeno[1,2,3-cd]pirene e 5-metilcrisene — hanno fornito chiara evidenza di mutagenicità/genotossicità nelle cellule somatiche in esperimenti in vivo e, con l'eccezione del benzo[ghi]perilene, hanno anche mostrato chiari effetti cancerogeni in vari tipi di saggi biologici condotti su animali da esperimento. Pertanto, l'SCF ha affermato che tali composti possono essere considerati come potenzialmente genotossici e cancerogeni per l'uomo e sono quindi un gruppo prioritario nella valutazione del rischio di effetti avversi a lungo termine per la salute a seguito di assunzione di IPA tramite l'alimentazione. L'SCF ha suggerito di usare il benzo[a]pirene come marcatore della presenza e degli effetti degli IPA cancerogeni contenuti negli alimenti in base all'esame dei profili di tali composti e alla valutazione di uno studio sulla cancerogenicità di due miscele a base di catrame di carbone effettuato sul topo. Nel 2005 il JECFA, utilizzando le valutazioni dell'IPCS e dell'SCF e prendendo in considerazione studi più recenti, ha condotto una nuova valutazione degli IPA.

Complessivamente, il JECFA ha concluso che 13 IPA sono chiaramente genotossici e cancerogeni. Con l'eccezione di benzo[ghi]perilene e ciclopenta[cd]pirene, i composti erano gli stessi indicati dall'SCF. Il JECFA ha inoltre concluso che il benzo[a]pirene poteva essere usato come marcatore

dell'esposizione ai 13 IPA genotossici e cancerogeni e dei relativi effetti nocivi. Inoltre il JECFA ha raccomandato di includere anche il benzo[c]fluorene tra i composti da analizzare in futuro.

A seguito della raccomandazione per ulteriori indagini sui livelli degli IPA in determinati alimenti (2005/108/CE), 18 Stati membri hanno presentato quasi 10.000 risultati relativi ai livelli degli IPA in vari prodotti alimentari di cui 1031 campioni di pesce e frutti di mare. Una valutazione di tali dati condotta dall'EFSA nel giugno 2007 e aggiornata nel giugno 2008 mostra che la concentrazione del benzo[a]pirene era circa 1 ng/g; per l'87% dei campioni di molluschi bivalvi e per il 51% dei campioni di pesce e frutti di mare presi in esame la concentrazione era superiore al limite di rilevanza. Tuttavia in circa il 30% dei campioni erano presenti altri IPA cancerogeni e genotossici, nonostante il mancato rilevamento del benzo[a]pirene. Per quanto riguarda i singoli IPA, è il crisene quello rilevato più comunemente nei campioni analiticamente negativi per il benzo[a]pirene, e con il livello più alto (circa 4 ng/g nei prodotti della pesca). In considerazione di tali risultanze la Commissione ha chiesto una revisione completa del parere dell'SCF del 2002 sugli IPA.

Pertanto, il gruppo di esperti scientifici sui contaminanti nella catena alimentare (gruppo CONTAM) dell'EFSA ha riesaminato i dati disponibili e ha concluso che la caratterizzazione del rischio dovrebbe basarsi sugli IPA per i quali sono disponibili dati sulla cancerogenicità per via orale, ovvero benzo[a]pirene e gli altri IPA misurati nelle due miscele di catrame di carbone usate negli studi sulla cancerogenicità di Culp *et al.* (1998): benz[a]antracene, benzo[b]fluorantene, benzo[k]fluorantene, benzo[ghi]perilene, crisene, dibenz[a,h]antracene e

indeno[1,2,3-cd]pirene. Il gruppo CONTAM ha concluso che tali otto IPA (IPA8), sia singolarmente che in combinazione, sono attualmente gli unici possibili indicatori del potenziale cancerogeno degli IPA negli alimenti. Oltre alla somma degli otto IPA (IPA8), è stata calcolata la somma di benzo[a]pirene, crisene, benz[a]antracene e benzo[b]fluorantene (IPA4), nonché quella di benzo[a]pirene e crisene (IPA2). Il gruppo CONTAM ha concluso che il benzo[a]pirene non è il solo indicatore idoneo a rappresentare la presenza di tali composti. Sulla base dei dati disponibili, relativi alla presenza degli IPA negli alimenti e alla loro tossicità, il gruppo ha anche concluso che IPA4 e IPA8 sono gli indicatori più idonei per gli IPA negli alimenti, e che IPA8 non hanno un particolare valore aggiunto rispetto a IPA4.

Attualmente solo il benzo (a) pirene risulta normato alla voce 6.1.4 “Muscolo di pesce non affumicato” (Regolamento CE n. 1881/2006 della Commissione del 19/12/2006) e il suo tenore massimo è 2,0 µg/Kg di peso fresco.

La ricerca ha dimostrato che la condizione necessaria ma non sufficiente affinché un IPA sia cancerogeno è che la struttura contenga almeno 4 anelli condensati. La spiegazione risiede nel fatto che aumentando il livello di condensazione la molecola risulta meno stabile e le reazioni metaboliche di epossidazione sono favorite. La maggior parte degli IPA cancerogeni possiede la “bay region”; regione stericamente impedita fra un anello benzenico fuso in posizione angolare con il resto della molecola. Sugli anelli componenti la “bay region” si formano i diidrodioloepossidi (Figura 5-11) che sono i veri agenti cancerogeni (Menichini e Rossi, 1991).

Il composto originale (IPA) viene sottoposto ad ossidazione da parte degli enzimi della fa-

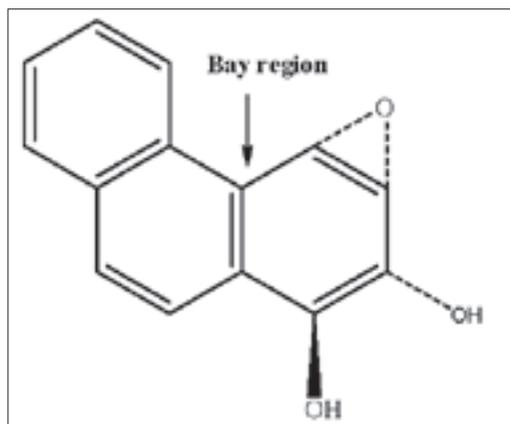


Figura 5-11 Posizione sterica della “bay region”.

miglia del citocromo P450, con formazione di epossidi e specie idrossilate in varie posizioni, che subiscono a loro volta ulteriori trasformazioni metaboliche. Mentre gli IPA in sé sono chimicamente inerti, nel corso di queste reazioni metaboliche possono formarsi degli intermedi elettrofili capaci di interagire con varie macromolecole biologiche, compreso il DNA (IPCS, 1998).

L’attivazione metabolica degli IPA è quindi necessaria per la loro azione di tossicità, mutagenicità, cancerogenicità (Miller e Miller, 1966; Miller, 1978; Harvey, 1991). Nella maggior parte dei casi, il processo di attivazione del citocromo P450 (CYP) è un primo passo nella formazione dell’eossido seguito dalla formazione di altri metaboliti elettrofili molto reattivi capaci di legarsi a macromolecole cellulari, in particolare proteine e acidi nucleici.

In generale, sono state descritte per gli IPA tre principali vie metaboliche (Xue e Warschawsky, 2005). Storicamente, il primo processo scoperto come passaggio fondamentale per la mutagenicità di molti IPA è stata la formazione dei diidrodioloepossidi sulla “bay region” (Hall e Grover, 1990; Harvey, 1991). Successivamente è stata scoperta, la via di ossidazione a un elettrone che porta alla formazione di radicali di IPA più

reattivi dei composti di partenza (Cavaliere e Rogan, 1992, 1995). Più recentemente, è stata descritto il percorso dell'orto-chinone (Penning *et al.*, 1996; 1999).

Nel corso degli ultimi cinquanta anni, sono state studiate le singole fasi della formazione dei diidrodioleossido sulla "bay region". Studi sul metabolismo, il legame covalente al DNA, mutagenesi e cancerogenicità hanno fornito una buona prova che un certo numero di IPA sono attivati da questo percorso. Questi includono il benzo [a] pirene

(Dipple *et al.*, 1984; Gelboin, 1980), crisene, (Nordquist *et al.*, 1981), 5-metilcrisene (Hecht *et al.*, 1985), il benzo [c] fenantrene (Dipple *et al.*, 1987), benzo [a] antracene (Levin *et al.*, 1978); 7,12-dimetilbenz [a] antracene (Slaga *et al.*, 1979); e dibenzo [a, l] pirene (Ralston *et al.*, 1994, 1995).

Il percorso procede in linea di principio in tre passaggi catalizzati da un enzima. In primo luogo, un doppio legame aromatico C-C viene ossidato dagli enzimi del CYP con formazione dell'epossido corrispondente.

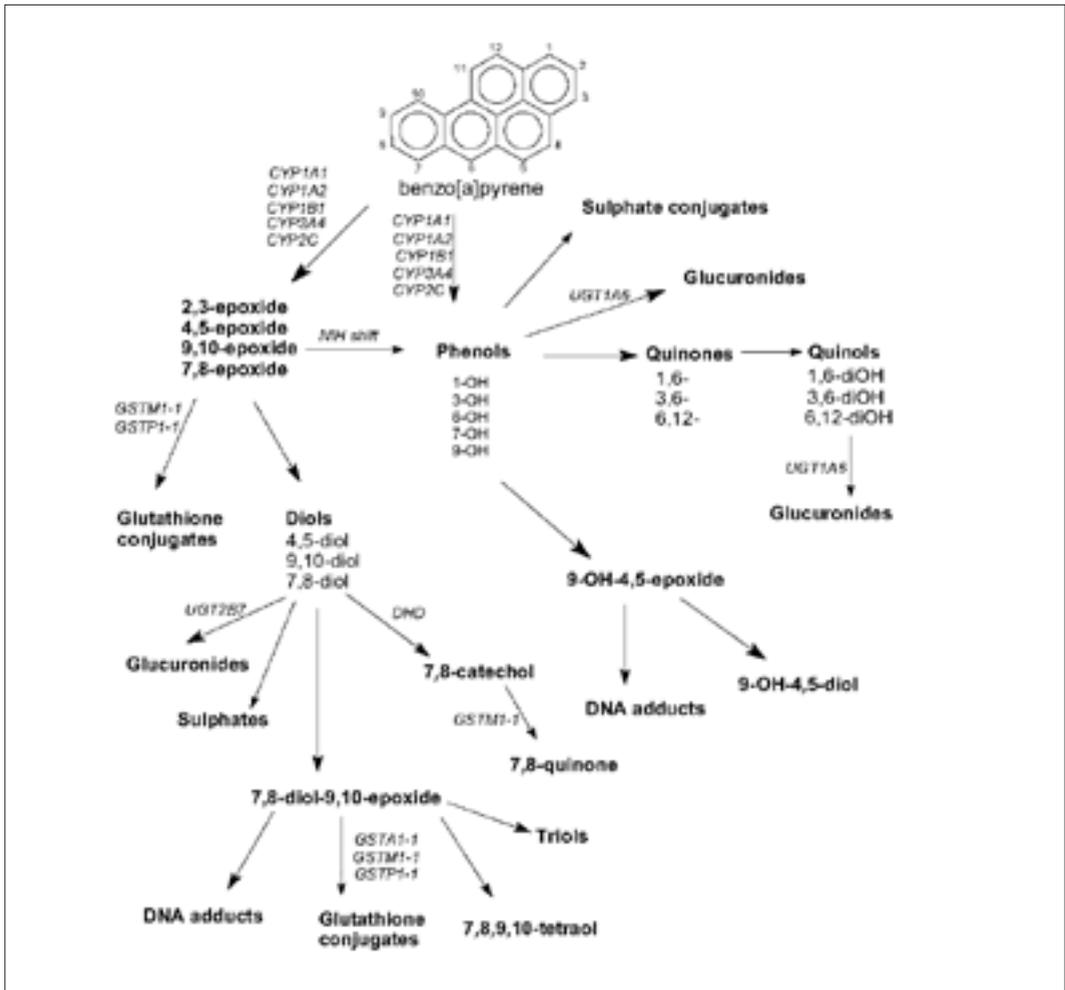


Figura 5-12 Pathway metabolico del benzo(a)pirene tratto dal rapporto ISTISAN 03/22.

Compound	Willett	Clemons	Klimm
Benzo[k]fluoranthene (BkF)	0,00478	0,05	0,00029
Benzo[a]pyrene (BAP)	0,00035	0,00001	0,0003
Benzo[b]fluoranthene (BbF)	0,00253		0,00038
Chrysene (Chr)	0,0002	0,01	
Benzo[a]anthracene (BA)	2,5E-05	0,00001	2,7E-05
Indenol[1,2,3-c,d]pyrene (IdP)	0,0011		8,6E-05
Dibenzo[a,h]anthracene (DBA)	0,00203	0,05	7,8E-05
Anthracene (Ant)		0,0001	

Tabella 5-5 Alcuni valori di potenza relativa (REP) tratto da Eljarrat e Barcelo, 2003.

Quindi, epossido idrolasi microsomiali (EH) converte l'eossido nel corrispondente diidrodiole. Infine, un altro doppio legame C-C adiacente al gruppo diolo viene ossidato e conduce ad un diolo epossido vicinali. Il nuovo composto così formatosi (diidrodioleossido) risulta particolarmente elettrofilo e in grado di reagire con i nucleofili. Il legame covalente che può formare con la molecola del DNA è considerato un forte promotore dell'evento mutageno.

Si riporta come esempio il percorso metabolico del benzo(a)pirene (Figura 5-12)

I derivati metilati degli IPA sono cancerogeni quando i metili sostituiscono gli idrogeni degli stessi anelli che costituiscono la "bay region". Le sostituzioni con alogeni, invece, diminuiscono o sopprimono l'attività cancerogena, dato che la dealogenazione permette di ottenere idrossiderivati senza passare attraverso gli epossidi. Comunque i cancerogeni ad azione più intensa sono i nitroderivati, che si formano in atmosfera per effetto di reazioni fotochimiche con acido nitrico e ossidi di azoto, infatti è proprio il processo di nitrificazione a trasformare in cancerogeni composti che normalmente non lo sarebbero. È questo il caso di pirene e nitro-pirene (Menechini, 1994).

Recenti studi indicano che è possibile stimare gli equivalenti di tossicità (TEQ) per i

campioni ambientali contenenti IPA e composti diossina simili.

Le informazioni di seguito riportate sono tratte da una pubblicazione di Eljarrat e Barcelò del 2003 che presenta una panoramica delle conoscenze attuali sui contributi di ciascun contaminante diossina-simile.

La Tabella 5-5 riporta i valori di REP (potenza relativa) calcolati da tre diversi autori con sistemi biologici, effetti osservati e metodi di calcolo diversi. Willett *et al.* nel 1997 hanno determinato la potenza di induzione degli IPA rispetto alla 2378-TCDD nelle Cellule H4IIE di epatoma di ratto, e i TEF rispetto alla TCDD variano da 0,000025 per benzo [a] antracene (BA) e 0,00478 per il benzo [k] fluorantene (BkF). Clemons *et al.* nel 1998 hanno esaminato la capacità degli PAH di indurre attività luciferasi AHR-mediata in cellule di epatocarcinoma di topo, e riportano valori di REP compresi tra 0,00001 per BA o benzo [a] pirene (BAP) e 0,05 per BkF o dibenzo [a,h] antracene (DBA).

Infine Klimm *et al.* nel 1999 hanno determinato la potenza relativa degli IPA confrontando l' induzione dell' attività EROD rispetto alla 2378 TCDD. I valori di REP variano da 0,000027 per BA e 0,00038 per il benzo [b] fluorantene (BbF). In questi tre studi, BkF è risultato essere tra i più potenti IPA.

5.2. Determinazioni analitiche

5.2.1. Strumentazione

- gascromatografo Varian 3800 accoppiato con spettrometro di massa triplo quadrupolo Varian 1200 e dotato di autotampionatore CP-8400. Il gascromatografo è fornito di due iniettori: PTV (Programmable Temperature Vaporizing) e S/SL (split/splitless) e monta una colonna da 60 m x 0.25 mm x 0.25 µm DB-5 MS
- accelerated Solvent Extraction ASE 300 - Dionex
- gascromatografo HP mod. 6890 interfacciato con spettrometro di massa quadrupolare modello 5973 dotato di autotampionatore a 100 posti mod. 7683. Il gascromatografo è fornito di due iniettori: PTV e S/SL e monta una colonna da 60 m x 0.25 mm x 0.25 µm DB-5 MS
- evaporatore rotante Heidolph laborota mod. 4010 e gruppo da vuoto PC 2001 vario
- büchi Extraction System B 81 I
- bagno ultrasuoni Branson 2200
- evaporatore per vials in corrente di azoto TURBOVAP LV Caliper
- iofilizzatore HETOSICC Free Dryer Type CD 53-I.

5.2.2. Metodi

Policlorodibenzodiossine/policlorodibenzofurani e policlorobifenili:

- metodo EPA 8280 (1996, rev B 1998).
- linee guida ISS-XEN-99-3 per interventi analitici mirati al rilevamento di PCB, PCDD e PCDF in prodotti alimentari.

Idrocarburi policiclici aromatici:

- “determinazione Idrocarburi Policiclici Aromatici (IPA) nelle matrici alimentari e ambientali” BOLL. CHIM. IGIEN. Vol. 45 (1994) 605.

Determinazione del grasso:

- metodo riportato nel rapporto ISTISAN 96/34 pag. 39. (Il campione è estratto per 6-8 ore in un estrattore Soxhlet. I palloni di vetro di raccolta, precedentemente tarati, una volta evaporato il solvente vengono pesati a peso costante e si determina la quantità di grasso residua.)

5.2.3. Policlorodibenzodiossine, policlorodibenzofurani (PCDD e PCDF) e policlorobifenili (PCB).

La preparazione del campione è descritta al Paragrafo 3.5

Il campione viene pesato alla fine del processo di liofilizzazione per la determinazione della percentuale di acqua contenuta.

Il liofilizzato viene contaminato con 200 µl di una miscela di PCDD e PCDF, marcati con $^{13}\text{C}_{12}$ la cui composizione è riportata in Tabella 5-6 che viene utilizzato come “standard interno”.

La marcatura consente una corretta valutazione dei recuperi e una precisa quantificazione dei 17 congeneri specifici 2,3,7,8 clorosostituiti, così come previsto nel metodo EPA 8280.

Congeneri marcati	Concentrazione (ng/ml)
2,3,7,8 TCDF	1
2,3,7,8 TCDD	1
1,2,3,6,7,8 HxCDD	1
1,2,3,4,6,7,8 HpCDF	2
OCDD	2

Tabella 5-6 Standard interno marcato utilizzato per la determinazione di policlorodibenzodiossine e policlorodibenzofurani.

Il campione in esame viene addizionato con hydromatrix celite e introdotto nella cella di acciaio dell'estrattore ASE 300 Dionex con le seguenti condizioni di estrazione:

- solvente: esano 50% e metilene cloruro 50%
- pressione 1500 psi
- temperatura 120 °C
- static Time 10 min.
- flush volume 60%
- purge time 60 secondi

Dall'estratto così ottenuto, dopo evaporazione del solvente si ricava il grasso che verrà sottoposto ad analisi.

Per la prima fase delle purificazioni si utilizza una colonna (ϕ 2.5 cm) in vetro (con setto poroso e rubinetto) che viene impaccata nell'ordine con sodio solfato anidro (1 cm), gel di silice (2 cm) e extralut premiscelata con acido solforico conc. (8g + 7.5 ml).

Dopo lavaggio con 100 ml di pentano si carica il grasso (massimo 5 g) fluidificato con 2-3 ml di n-esano e si eluisce con 150ml di n-esano avendo cura di non far percolare troppo velocemente all'inizio, per dar modo all'attacco acido di agire in modo efficace e completo (1-2 gocce al secondo).

Evaporato l'eluato raccolto, che non contiene più grasso, portato a piccolo volume (in Rotavapor) circa 1 ml si procede alla purificazione su colonna multistrato.

La colonna utilizzata (ϕ 1 cm) in vetro (con setto poroso e rubinetto) (Figura 5-13a) viene impaccata nell'ordine con sodio solfato anidro (2 cm), gel di silice (2 cm), sodio solfato miscelato con sodio bicarbonato (4+1) (2 cm), celite (1 cm), extralut premiscelata con acido solforico conc. (8 g+7.5 ml)(2 cm).

Si carica a secco l'estratto in testa alla colonna lavando la pera a più riprese con 1-2 ml di n-esano e si fluisce con 20 ml di n-esano.

Tale frazione raccolta in una vial contiene i PCB e PCDD-PCDF. Si evapora a freddo in

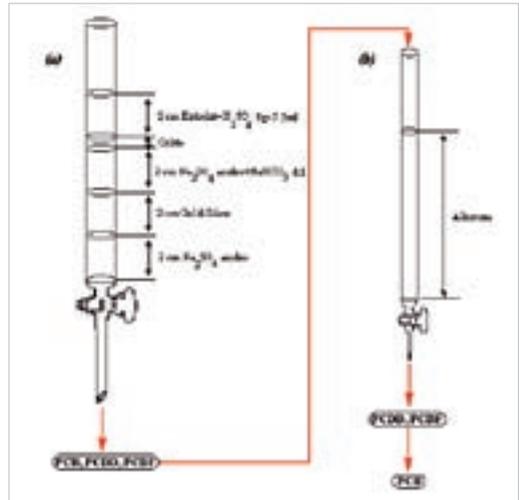


Figura 5-13 Schematizzazione del procedimento analitico di purificazione di PCB e PCDD/PCDF.

corrente d'azoto fino a circa 0.5 ml e si procede alla purificazione su colonna d'allumina. La colonna utilizzata (ϕ 0.5 cm) in vetro (con setto poroso e rubinetto) (Figura 5-13 b) viene impaccata con allumina neutra 10 cm. Si carica l'estratto aiutandosi nel trasferimento con 1 ml di n-esano poi si eluisce con 10 ml di una miscela n-esano+ diclorometano (98+2) raccogliendola in una vial. Questa frazione contiene i PCB.

Si procede poi ad una ulteriore eluizione con 10 ml di una miscela n-esano+diclorometano (1:1). Questa frazione raccolta in vial contiene PCDD-PCDF.

Tutte le colonne vengono impaccate a secco e le fasi mantenute attivate in stufa a 130°C. I due eluati separati, portati a secco in corrente di azoto, vengono ripresi rispettivamente con 200 μ l di iso-ottano (PCB) e 200 μ l di nonano (PCDD/PCDF) quindi sottoposti all'analisi strumentale.

Il metodo utilizzato per la determinazione strumentale dei 18 PCB comprende tutti i parametri per l'acquisizione e l'elaborazione dei dati. Di seguito vengono riportati i parametri di controllo del gascromatografo/spettrometro di massa presenti nel metodo.

Gascromatografo:

- temperatura iniettore = 250°C
- sistema di iniezione = pulsed splitless
- pulse time = 1.0 min
- pulse pressure = 50 psi
- purge time = 0.90 min
- rampa di temperatura: 70°C per 1 min. 25°C/min fino a 240 per 1 min. 4°C/min °C fino per 290°C per 25 min.
- gas di trasporto = elio

- flusso = 1.2 ml/min
- modalità = flusso costante

Spettrometro di massa:

- temperatura iniettore = 300°C
- temperatura quadrupolo = 150°C
- temperatura sorgente = 230°C
- solvent delay = 7.70 min
- modalità di acquisizione = SIM

	tempo (min.)	Masse acquisite
Gruppo 1	7.70	188, 190, 222, 224
Gruppo 2	10.43	222, 224, 256, 258, 260
Gruppo 3	11.43	256, 258, 260, 290, 292, 294, 324, 326, 328, 358, 360, 362
Gruppo 4	16.05	324, 326, 328, 358, 360, 362, 392, 394, 396
Gruppo 5	18.43	358, 360, 362, 392, 394, 396, 428, 430, 432
Gruppo 6	21.61	428, 430, 432, 462, 464, 466
Gruppo 7	25.31	496, 498, 499

Tabella 5-7 Gruppi di acquisizione per la determinazione dei PCBs in modalità SIM. Parametri del metodo PCB60.M in dotazione presso Arpa RA.

	Classificazione IUPAC	Ione Target	Ione Qualifier Q1	Ione Qualifier Q2
2,4,4' Tri-CB	PCB - 28	258	256	260
2,2',5,5' Tetra-CB	PCB - 52	292	290	294
2,2',3,5',6 Penta-CB	PCB - 95	326	324	328
2,2',4,4',5 Penta-CB	PCB - 99	326	324	328
2,2',4,5,5' Penta-CB	PCB - 101	326	324	328
2,3,3',4,4' Penta-CB	PCB - 105	326	324	328
2,3,3',4',6 Penta-CB	PCB - 110	326	324	328
2,3',4,4',5 Penta-CB	PCB - 118	326	324	328
2,2',3,4,4',5' Esa-CB	PCB - 138	360	362	358
2,2',3,4',5,5' Esa-CB	PCB - 146	360	362	358
2,2',3,4',5',6 Esa-CB	PCB - 149	360	362	358
2,2',3,5,5',6 Esa-CB	PCB - 151	360	362	358
2,2',4,4',5,5' Esa-CB	PCB - 153	360	362	358
2,2',3,3',4,4',5 Epta-CB	PCB - 170	394	396	392
2,2',3,3',4',5,6 Epta-CB	PCB - 177	394	396	392
2,2',3,4,4',5,5' Epta-CB	PCB - 180	394	396	392
2,2',3,4,4',5,6 Epta-CB	PCB - 183	394	396	392
2,2',3,4',5,5',6 Epta-CB	PCB - 187	394	396	392

Tabella 5-8 Frammenti di masse (m/z) relativi ad ogni PCB. La proporzionalità diretta con la concentrazione dello ione target determina la concentrazione del congenere mentre il rapporto dei due ioni qualifier fissa l'identificazione con una tolleranza ±20%.

Autocampionatore:

- volume iniettato = 1 μ l
- lavaggio solvente A (toluene) = 2 μ l
- lavaggio solvente B (toluene) = 2 μ l
- avvinamento campione = 4 μ l

I gruppi acquisiti e gli ioni target equalifier utilizzati sono riportati in Tabella 5-7 e Tabella 5-8. L'analisi quantitativa è realizzata utilizzando la retta di taratura.

Per quanto riguarda la determinazione strumentale di PCDD-PCDF, il sistema spettrometrico GC/MS/MS è costituito da una sorgente, un analizzatore di massa, una cella di collisione, un secondo analizzatore di massa e un sistema di rilevazione degli ioni (Figura 5-14).

I componenti della miscela che eluiscono dal sistema gascromatografico sono ionizzati dalla sorgente per formare degli ioni positivi caratteristici. La separazione di questi ioni è ottenuta isolando ioni di specifico m/z "ione padre" con il primo analizzatore. Gli ioni padre vengono accelerati con una energia di 20-30 eV in una cella di collisione contenente argon alla pressione di circa 2.5 mTorr. La collisione tra questi ioni e le molecole di argon porta ad una dissociazione collisionale attivata che produce vari frammenti. La separazione di questi ultimi ioni è ottenuta nel secondo analizzatore di massa che isola gli specifici "ioni figlio".

Il valore delle masse degli ioni figlio si ottiene dalla perdita del gruppo COCl (m/z=63) dopo aver fornito energia di collisione agli ioni padre.

Anche se il numero assoluto di ioni che raggiunge il detector in condizioni di MS/MS è inferiore a quello che in singolo stadio MS l'abbattimento del rumore di fondo permette di raggiungere limiti di rilevabilità più bassi e quindi rapporti segnale/rumore più elevati. Tale caratteristica porta ad avere una sensibilità pressoché identica a quella di una massa magnetica (45 fg di TCDD danno un segnale cromatografico con un rapporto segnale rumore S/N pari a 241 definito su otto punti). L'apparecchiatura viene tarata con una miscela CC3 diluita 1:500 in nonano (Tabella 5-9). La determinazione quantitativa, eseguita col metodo dello standard interno utilizzando i cinque congeneri marcati riportati in Tabella 5-6, è calcolata sulla base della somma delle abbondanze dei due ioni figlio acquisiti per ogni composto.

Vengono riportati di seguito i parametri di controllo della strumentazione.

Gascromatografo:

- temperatura iniettore = 250°C
- sistema di iniezione = PTV
- programma iniettore. Da 80°C per 35 min.-Rate 200°C al minuto fino a 300°C per 15min.

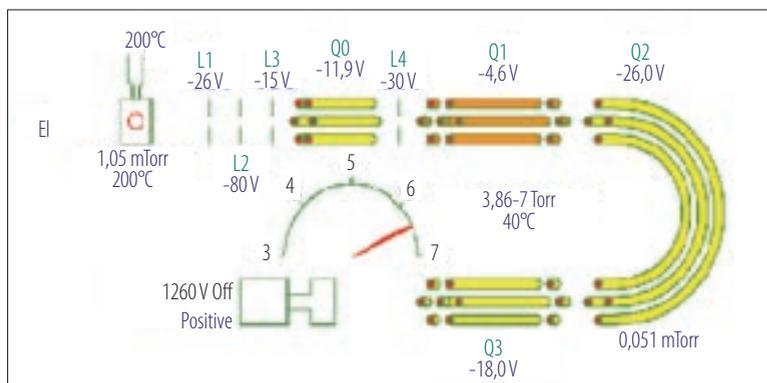


Figura 5-14 Schema Triplo quadrupolo Varian 1200.

- rampa di temperatura: 70°C per 1 min. 25°C/min fino a 240 per 1 min. 4°C/min °C fino per 290°C per 20 min
- gas di trasporto = elio
- flusso = 1.2 ml/min
- modalità = flusso costante
- modalità di acquisizione MS/MS
- gas di collisione = argon
- pressione gas di collisione = ca 2.5 mTorr
- solvent delay = 12 min

Spettrometro di massa:

- temperatura iniettore = 250°C
- temperatura quadrupoli (Q1 e Q3) = 40°C

Autocampionatore:

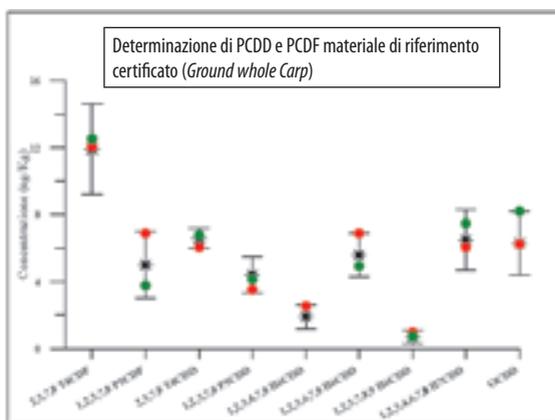
- volume iniettato = 5 µl
- prelavaggio con Toluene = 10 µl per 3 step
- avvinamento campione = 10 µl per 1 step

Numero prog.	Tempo ritenzione	Composto	Energia di collisione	Ioni padre	Ioni figlio	Conc. CC3 (1:500) ng/ml
1	16.06	M2,3,7,8TCDF	30 eV	318+316	254+252	1.0 (st. int).
2	23.64	M1,2,3,4,6,7,8HpCDF	30 eV	422+420	358+356	2.0 (st. int).
3	16.17	M1,2,3,4TCDD	20 eV	334+332	270+268	1.0
4	16.34	M2,3,7,8TCDD	20 eV	334+332	270+268	1.0 (st. int).
5	21.53	M1,2,3,6,7,8HxCDD	25 eV	402+400	338+336	1.0 (st. int).
6	21.75	M1,2,3,7,8,9HxCDD	25 eV	402+400	338+336	1.0
7	28.96	MOCDD	25 eV	472+470	408+406	2.0 (st. int).
8	16.09	2,3,7,8TCDF	30 eV	306+304	243+241	1.0
9	16.35	2,3,7,8TCDD	20 eV	322+320	259+257	1.0
10	18.22	1,2,3,7,8PCDF	30 eV	340+338	277+275	1.0
11	18.77	2,3,4,7,8PCDF	30 eV	340+338	277+275	1.0
12	18.87	1,2,3,7,8PCDD	20 eV	356+354	293+291	1.0
13	20.82	1,2,3,4,7,8HxCDF	30 eV	374+372	311+309	2.5
14	20.96	1,2,3,6,7,8HxCDF	30 eV	374+372	311+309	2.5
15	21.37	2,3,4,6,7,8HxCDF	30 eV	374+372	311+309	2.5
16	22.22	1,2,3,7,8,9HxCDF	30 eV	374+372	311+309	2.5
17	21.46	1,2,3,4,7,8HxCDD	25 eV	390+388	327+325	2.5
18	21.55	1,2,3,6,7,8HxCDD	25 eV	390+388	327+325	2.5
19	21.84	1,2,3,7,8,9HxCDD	25 eV	390+388	327+325	2.5
20	23.59	1,2,3,4,6,7,8HpCDF	30 eV	410+408	347+345	2.5
21	24.75	1,2,3,4,6,7,8HpCDD	25 eV	426+424	363+361	2.5
22	25.46	1,2,3,4,7,8,9HpCDF	30 eV	410+408	347+345	2.5
23	29.34	OCDF	30 eV	444+442	381+379	5.0
24	28.93	OCDD	25 eV	460+458	397+395	5.0

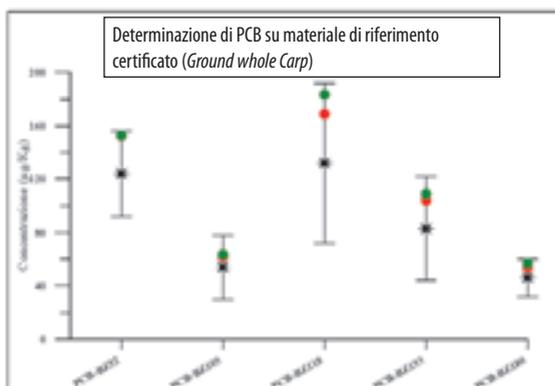
Tabella 5-9 Parametri spettrometrici relativi ai congeneri ricercati.

Unità di misura	Composto	valore vero	tolleranza	Carpa1 valore riscontrato	Carpa 2 valore riscontrato
ng/Kg	2, 3, 7, 8-Tetraclorodibenzofurano	11,9	2,7	12,1	12,5
ng/Kg	1, 2, 3, 7, 8-Pentaclorodibenzofurano	5	2	6,9	3,8
ng/Kg	2, 3, 7, 8-Tetraclorodibenzo-p-diossina	6,6	0,6	6,1	6,8
ng/Kg	1, 2, 3, 7, 8-Pentaclorodibenzodiossina	4,4	1,1	3,5	4,1
ng/Kg	1, 2, 3, 4, 7, 8-Esaclorodibenzodiossina	1,9	0,7	2,5	2,5
ng/Kg	1, 2, 3, 4, 6, 8-Esaclorodibenzodiossina	5,6	1,3	6,9	4,9
ng/Kg	1, 2, 3, 7, 8, 9-Esaclorodibenzodiossina	0,7	0,4	1,0	0,7
ng/Kg	1, 2, 3, 4, 6, 7, 8-Eptaclorodibenzodiossina	6,5	1,8	6,1	7,5
ng/Kg	Octaclorodibenzo-p-diossina	6,3	1,9	6,3	8,2
μg/Kg	52	124	32	152,6	152,8
μg/Kg	105	54	24	61,7	63,4
μg/Kg	118	132	60	169,0	183,6
μg/Kg	153	83	39	104,2	109,2
μg/Kg	180	46	14	53,5	56,8

Tabella 5-10 Analisi eseguita su due campioni di “Ground Whole Carp Reference Material for Organochlorine Compounds”



A)



B)

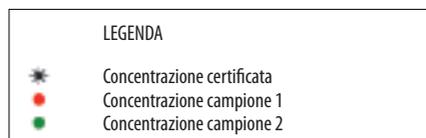


Figura 5-15 Rappresentazione grafica dei risultati analitici ottenuti per i due campioni di matrice certificata. a) PCDD, PCDF e b) PCB.

- eliminazione bolle = 3 pump
 - lavaggio post iniezione = 10 µl per 3 step
- Altri parametri spettrometrici sono riportati in Tabella 5-9.

Materiale di riferimento certificato

Protocolli di GLP (buone pratiche di laboratorio) e QA/QC (assicurazione qualità/controllo qualità) sono stati applicati attraverso analisi di bianchi, analisi in duplicato, matrici certificate. La Figura 5-15 e la Tabella 5-10 mostrano l'andamento dell'analisi, eseguita su due campioni di "Ground Whole Carp Reference Material for Organochlorine Compounds".

Le matrici certificate, Carpa 1 e Carpa 2, sono state analizzate in parallelo con i campioni seguendo le stesse procedure e utilizzando i medesimi apparecchi.

Come risulta dalla tabella e dai grafici sopra riportati i valori riscontrati nelle matrici certificate risultano compresi nelle tolleranze ammesse, dimostrando l'esattezza e la riproducibilità del metodo relativamente a PCB e PCDD-PCDF.

5.2.4. Idrocarburi policiclici aromatici (IPA)

Il campione liofilizzato è estratto in bagno a ultrasuoni per 15 minuti per tre volte con 30 ml di diclorometano. Gli estratti sono poi riuniti e portati a secco. Il grasso così ottenuto, previa aggiunta di 250 µl di benzo[a]pirene deuterato alla concentrazione di 200 ng/ml, è stato trasferito utilizzando 50 ml di n-pentano in imbuto separatore da 250 ml. Con pipetta tarata da 50 ml è stato aggiunto dimetilsolfossido procedendo all'estrazione per circa 2 minuti e separazione delle due fasi: fase dimetilsolfossido (strato inferiore) e fase idrocarburica (strato superiore). La fase inferiore priva di emulsione, è stata raccolta in un becker, con pipetta

tarata sono stati prelevati 25 ml e trasferiti in imbuto separatore da 250 ml. Dopo l'aggiunta di 40 ml di acqua fredda a $4^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ (reazione leggermente esotermica), si è atteso qualche minuto e si è proceduto all'estrazione per circa 2 minuti con 50 ml di cicloesano. La fase acquosa sottostante è stata eliminata e la fase idrocarburica è stata lavata per due volte con 40 ml di acqua distillata, scartando ogni volta la parte acquosa. La fase organica lavata è stata raccolta in un pallone a pera da 100 ml previo passaggio attraverso sodio solfato anidro anch'esso lavato con circa 20 ml di cicloesano. L'estratto, che non deve più contenere tracce d'olio, è stato portato a piccolo volume con evaporatore rotante sotto vuoto. Prima di procedere alla determinazione strumentale l'estratto viene purificato utilizzando una colonna ($\phi=1$ cm) che è stata impaccata con 3 g di gel di silice e 0.5 cm di sodio solfato anidro e attivata con 5ml di n-esano. L'estratto del campione precedentemente portato a piccolo volume si trasferisce in testa alla colonna lavando con 10 ml di n-esano che verranno scartati. Gli idrocarburi policiclici aromatici si eluiscono con 15 ml di miscela esano/diclorometano 3:2, raccolti in vial di vetro scuro da 40 ml e portati a secco in corrente di azoto.

Il residuo, ripreso con 500 µl di toluene, viene trasferito in vial da autocampionatore e sottoposto ad analisi gascromatografica.

La determinazione strumentale degli IPA è stata eseguita mediante (HRGC/LRMS) gascromatografo ad alta risoluzione interfacciato con spettrometro di massa a bassa risoluzione.

L'identificazione dei vari IPA avviene con il tempo di ritenzione e con il rapporto tra le masse dello ione Target e dello ione Qualifier. La quantificazione degli analiti si effettua con retta di taratura.

Il benzo[a]pirene deuterato è stato aggiunto allo scopo di tenere sotto controllo le varie

fasi del procedimento analitico valutandone il recupero. I risultati sono espressi in ng/g e i limiti di rilevabilità sono 0,05 ng/g per tutti gli analiti tranne che per il dibenzo[al]pirene, dibenzo[ae]pirene, dibenzo[ai]pirene, dibenzo[ah]pirene che vale 0,1 ng/g. Di seguito vengono riportati i parametri di controllo del gascromatografo/spettrometro di massa.

Gascromatografo:

- temperatura iniettore = 300°C
- sistema di iniezione = pulsed splitless
- pulse time = 1.0 min
- pulse pressure = 50 psi
- purge time = 0.90 min
- rampa di temperatura: 100°C per 1 min. 10°C/min fino a 300°C per 40 min
- gas di trasporto = elio
- flusso = 1,2 ml/min
- modalità = flusso costante

Spettrometro di massa:

- temperatura quadrupolo = 150°C
- temperatura sorgente = 230°C
- temperatura transfert line = 310°C
- solvent delay = 6.50 min
- modalità di acquisizione = SIM

Autocampionatore:

- volume iniettato = 1 µl
- lavaggio solvente A (toluene) = 2 µl
- lavaggio solvente B (toluene) = 2 µl
- avvinamento campione = 4 µl

I gruppi acquisiti e gli ioni target/qualifer utilizzati sono riportati in Tabella 5-11 e Tabella 5-12.

L'analisi quantitativa è realizzata utilizzando la retta di taratura.

5.3. Risultati e discussione

In questo capitolo saranno esposti e analizzati i dati analitici relativi allo screening volto alla ricerca e determinazione di alcuni inquinanti organici in specie appartenenti a differenti livelli della rete trofica dell'Alto Adriatico. L'indagine è relativa all'anno 2003, nel quale sono collocati i due tempi di prelievo (1 e 2), rispettivamente nei mesi di maggio-giugno e ottobre-novembre.

Come già osservato per i microinquinanti inorganici la replicazione temporale del campionamento ha permesso di apprezzare la presenza di variabilità temporale nella concentrazione di inquinanti che può essere attribuita a variazioni dello stato degli organismi o a modifiche dell'ambiente abiotico. L'analisi di diverse specie, alcune con abitudini bentoniche altre pelagiche, e di numerosi tipi di inquinanti ha permesso di apprezzare le differenze di bioaccumulo nelle diverse specie, il diverso grado di bioaccumulo dei singoli composti xenobiotici anche in funzione dei diversi congeneri e l'esistenza o meno di rischi di tipo tossicologico in relazione ai limiti posti dalla legislazione vigente.

I dati in termini di bioaccumulo su peso fresco e sul grasso ci permettono un più ampio e coerente confronto con i dati bibliografici e una più attenta analisi dell'eventuale gradiente di bioaccumulo nella rete trofica.

5.3.1. Policlorodibenzodiossine - policlorodibenzofurani

Le concentrazioni di PCDD e PCDF basate sul peso fresco sono riassunte in Appendice 3 per tempo 1 e Appendice 4 per il tempo 2. Nel complesso, i livelli di contaminazione di PCDD e PCDF da noi riscontrati sono dell'ordine del pg/g (1000 volte inferiore ai PCBs), con una prevalenza di PCDF rispetto a PCDD se si esclude la OCDD.

	Tempo (min.)	Masse acquisite
Gruppo1	6.20	128, 129
Gruppo2	10.64	152, 153, 154, 155
Gruppo3	13.00	165, 166
Gruppo4	15.00	176, 178, 179
Gruppo5	17.58	202, 203
Gruppo6	21.04	228, 229, 240
Gruppo7	24.54	250, 252, 260, 264
Gruppo8	29.54	276, 277, 278, 279
Gruppo9	39.50	302, 303

Tabella 5-11 Gruppi di acquisizione per la determinazione degli IPA in modalità SIM. Parametri del metodo IPA60bis.M in dotazione presso il Dip.Tec.Arpa RA.

Composto	Ione target	Ione qualifier
Naftalene	128	129
Acenaftilene	152	153
Acenaftene	154	155
Fluorene	166	165
Fenatrene	178	179
Antracene	178	176
Fluorantene	202	203
Pirene	202	203
Benzo[a]antracene	228	229
Crisene	228	229
Benzo[b]fluorantene	252	250
Benzo[k]fluorantene	252	250
Benzo[e]pirene	252	250
Benzo[a]pirene	252	250
Indeno[1,2,3-cd]pirene	276	277
Dibenzo[ah]antracene	278	279
Benzo[ghi]perilene	276	277
Dibenzo[al]pirene	302	303
Dibenzo[ae]pirene	302	303
Dibenzo[ai]pirene	302	303
Dibenzo[ah]pirene	302	303
Benzo[a]pirene deuterato	264	206

Tabella 5-12 Frammenti di masse (m/z) relativi ad ogni IPA. La proporzionalità diretta con la concentrazione dello ione target determina la concentrazione del congenere mentre il qualifier fissa l'identificazione.

Per i due tempi di indagine, il valore ottenuto dalla somma delle concentrazioni dei 17 congeneri ricercati, è più alto per *Chamelea gallina* (4,44 pg/g) e più basso per il Fitoplancton (0,27 pg/g) al tempo 2. Comunque per i due tempi considerati, i valori riscontrati sono confrontabili per tutti i taxa; ad eccezione del Fitoplancton che al tempo 1 (2,17 pg/g) presenta una concentrazione 8 volte più elevata.

Considerando l' Appendice 5 e l' Appendice 6 i valori dei 17 congeneri relativi al grasso, si osserva che: *Gobius paganellus* e *Scomber scombrus* presentano concentrazioni totali simili nei due tempi; Zooplancton, *Chamelea gallina*, *Mytilus galloprovincialis* e *Engraulis encrasicolus* hanno valori di concentrazione superiori al tempo 2 (2-7 volte) mentre solo per *Sardina pilchardus* al tempo 2 si ha una diminuzione della concentrazione circa del 50%.

È interessante osservare che alcuni congeneri, in particolare 2,3,7,8T4CDF e 2,3,4,7,8P5CDF presentano gradiente positivo (Appendice 5 e Figura 5-16) risalendo la rete

trofica si notano valori crescenti nell'ordine *Engraulis encrasicolus*, *Scomber scombrus* e *Euthynnus alletteratus*.

I valori elevati di diossine/furani totali riscontrati in *Gobius paganellus*, (531,25 pg/g di grasso) e *Chamelea gallina* (828,15 pg/g di grasso) potrebbero essere imputabili al loro basso tenore lipidico e alle abitudini bentoniche. Il paganello, infatti, è una specie che vive in acque poco profonde, in prossimità di zone portuali ad alto rischio di contaminazione ambientale e su fondi argillosi o sabbiosi come del resto la vongola.

Per quanto riguarda la valutazione del rischio tossicologico, nessuna matrice presa in esame supera il valore di 4 pg OMS-PCDD/F-TEQ/g sul peso fresco previsto dal Regolamento (CE) N. 1881/2006 del 19/12/06 (punto 5.3 parte 5: Diossine e PCB), tuttavia si rileva nel tonno alletterato la specie a più elevato rischio tossicologico con valore di 1,45 pg-TEQ/g (Appendice 7 e Appendice 8).

ITEQ del presente lavoro, sono stati calcolati con i fattori tossicità equivalente WHO

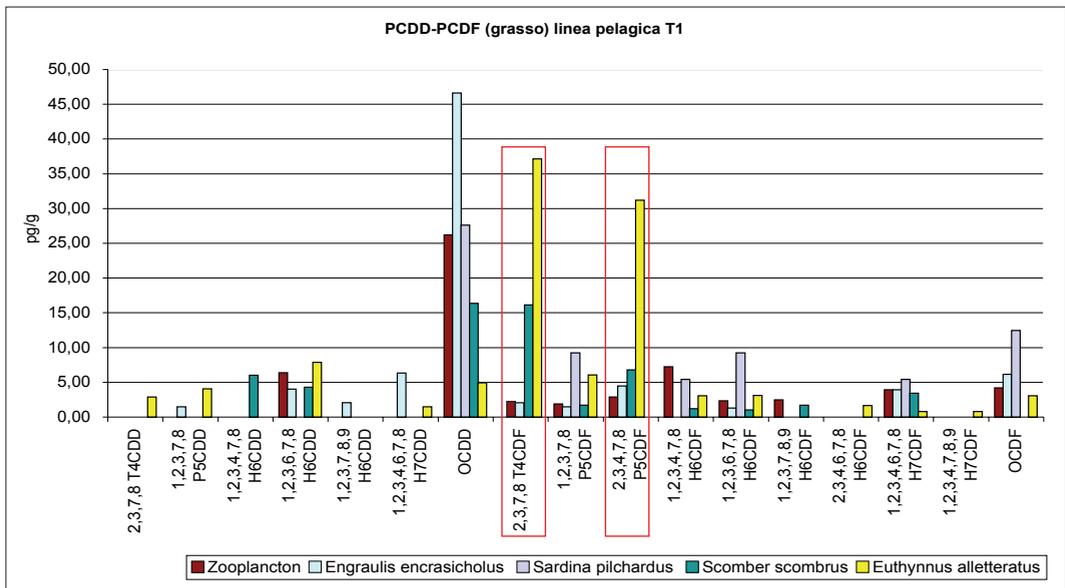


Figura 5-16 Concentrazioni di PCDD e PCDF per i due tempi di indagine, relative al grasso: linea pelagica tempo 1.

del 1998 e con WHO del 2005 (Van den Berg *et al.*, 2006). I congeneri con concentrazione inferiore al limite di quantificazione sono stati considerati uguali al suddetto limite (Upper bound) o pari a zero (Lower bound).

In generale, dal confronto fra TEQ calcolati nei due tempi di indagine, si osserva una diminuzione degli equivalenti di tossicità totali passando dal calcolo con WHO-TEF 1998 a WHO-TEF 2005 (Figura 5-17 e Figura 5-18) mentre non ci sono differenze

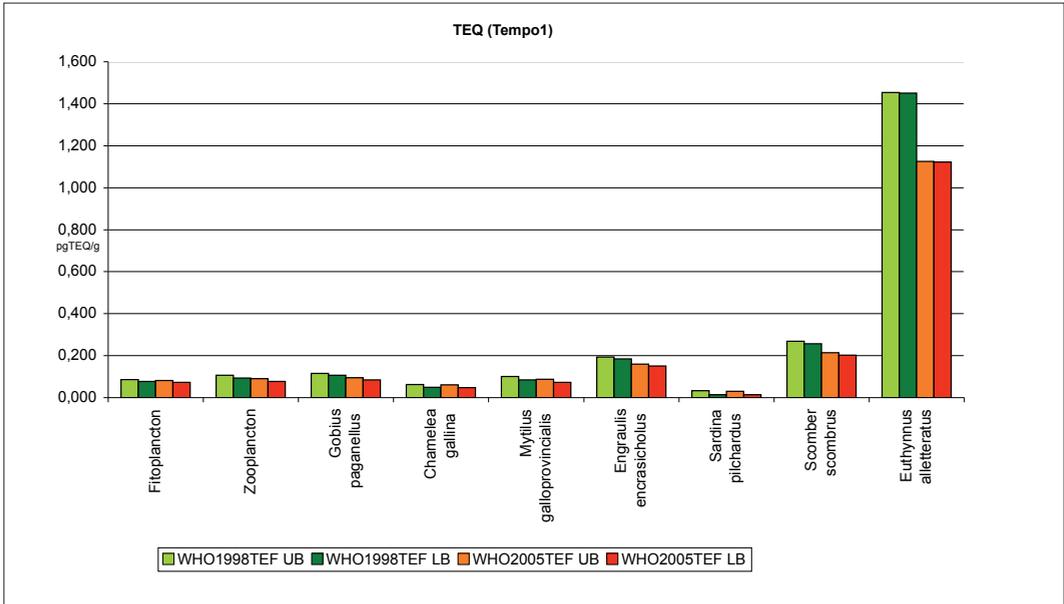


Figura 5-17 Confronto fra TEQ in base a WHO-TEF 1998 e WHO-TEF 2005: Tempo1.

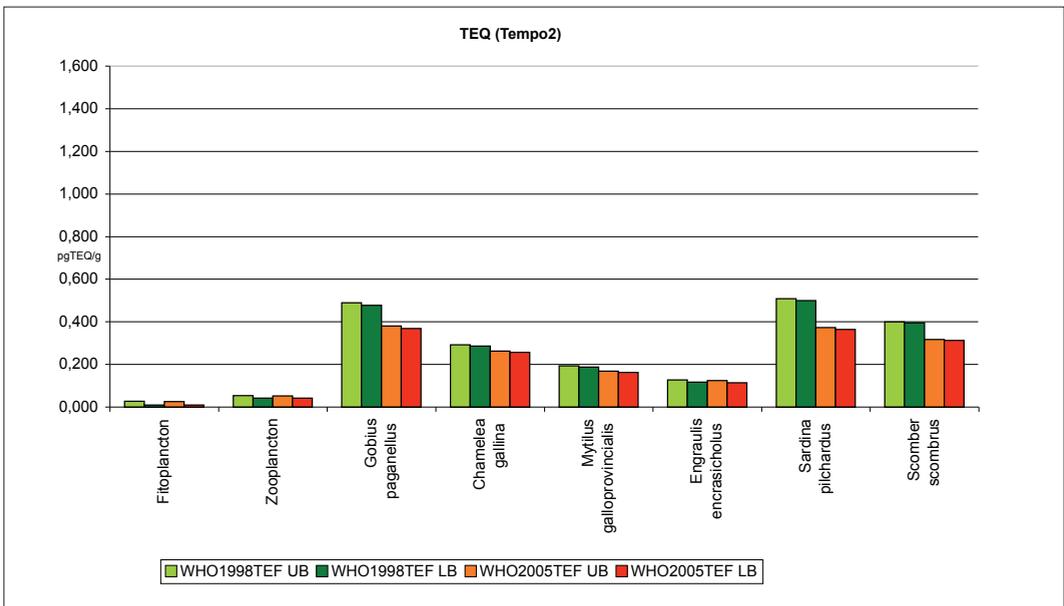


Figura 5-18 Confronto fra TEQ in base a WHO-TEF 1998 e WHO-TEF 2005: Tempo2.

fra i TEQ calcolati come “Upper bound” e “Lower bound”.

Mediamente per tutte le specie e nei due tempi di indagine (Appendice 7 e Appendice 8) 2,3,4,7,8 P5CDF è il congenere che insieme al 2,3,7,8 T4CDF apporta il più elevato contributo a TEQ in accordo con i dati riportati da Bayarri *et al.* (2001) per prodotti ittici prelevati in Adriatico nel 1997/98.

I risultati della presente indagine trovano un riscontro, sia in termini qualitativi che quantitativi, anche nei risultati ottenuti dall'indagine sulla Laguna di Venezia (Di Domenico *et al.*, 1997) e sull'indagine condotta nel Mare Adriatico nel 1997/98 (Bayarri *et al.*, 2001).

Nell'indagine condotta sulla Laguna di Venezia (zona considerata ad alto rischio per

la salute dato il forte impatto antropico dell'urbanizzazione e dalla presenza del sito industriale di Porto Marghera), fu prevista la determinazione di microinquinanti organici e metalli pesanti su pesci e molluschi. Pertanto furono individuate sei aree della Laguna, compresa una stazione di controllo localizzata in mare aperto. Le sei aree rappresentavano le diverse peculiarità del sito ed erano definite “aree di rischio virtuale”. La Tabella 5-13 riporta i risultati.

Alcuni anni dopo, come completamento dello studio sopra citato, fu condotta una nuova indagine che si estendeva in tutto il Mare Adriatico (Bayarri *et al.*, 2001).

La suddivisione in due campagne di campionamento (Aprile-Giugno 1997, Novembre

		IPA totali ng/g	B [a] P ng/g	PCBs ng/g	PCDD, PCDF pg/g	PCDD, PCDF pgTE/g
AREA 1. INDUSTRIALE	vongola*	62,0	5,5	23	42	1,3
AREA 2. URBANA	vongola*	26,0	2,4	29	13	0,87
AREA 3. MISTA	vongola*	14,0	1,1	19	7,8	0,54
	vongola*	4,7	0,65	4,7	3,2	0,27
	vongola*	5,4	0,55	8,0	4,5	0,40
	vongola*	28,0	3,2	29	26	1,4
AREA 4. ZONA DI PESCA	vongola*	2,8	<0,2	1,9	1,4	0,079
	mitilo**	11,0	0,77	16	3,6	0,23
	mitilo**	17,0	1,8	23	4,3	0,32
	mitilo**	10,0	<0,2	32	4,3	0,46
	mitilo**	14,0	0,3	46	4,7	0,52
	mitilo**	8,7	0,5	34	4,3	0,47
	mitilo**	13,0	<1,0	37	5,8	0,54
	mitilo**	5,2	0,2	14	3,1	0,24
	mitilo**	6,7	0,45	16	4,1	0,31
	mitilo**	8,8	<0,2	35	6,2	0,57
mitilo**	9,3	<1,0	36	6,3	0,63	
AREA 5. ZONA PRIVATA DI PESCA	grey mullet***	<2	<0,2	7,3	0,78	0,15
	sea bream****	4,6	<0,2	26	6,5	1,3
AREA 6. MARE APERTO	mitilo**	3,2	<0,5	15	3,4	0,25

* *Tapes philippinarum* ** *Mytilus galloprovincialis*

*** *Liza ramada* **** *Sparus aurata*

Tabella 5-13 Risultati espressi in ng/g (salvo diversa indicazione) per peso fresco parte edibile di campioni collezionati il 16 e 17 ottobre 1995 (Di Domenico *et al.*, 1997).

1997-Gennaio 1998), prevedeva 9 siti del Nord Adriatico, 6 siti al centro Adriatico e 4 siti al Sud. Furono prese in esame specie ad alto valore commerciale quali mitili, vongole, calamari, aragoste, alici, sgombri e triglie. La Tabella 5-14, tratta da Bayarri *et al.* (2001), mostra i valori di microinquinanti riscon-

trati limitatamente alla subarea denominata Nord-Adriatico e per le specie in comune con il presente lavoro.

Le concentrazioni di PCDDs e PCDFs sono relative ai pesi freschi. Nella colonna PCBs: a) rappresenta una somma di 65 congeneri e b) è la sommatoria di 7 congeneri; PCB

Specie	% grasso	PCDDs (pg/g)	PCDFs (pg/g)	PCDD/Fs (pgTEQ/g)	PCBs	
					a) pg/g	b) ng/g
Alice	3,3	0,50	1,53	0,47	132,00	62,70
Mitilo	1,6	1,54	1,52	0,24	45,00	18,50
Sgombro	8,7	0,34	2,49	0,59	177,00	80,60
Vongola	1,0	0,53	1,38	0,13	10,30	3,93

Tabella 5-14 Concentrazioni di alcuni microinquinanti organici relativi a campioni prelevati in Mare Adriatico Nord (Bayarri *et al.*, 2001).

Specie	Area	% grasso	PCDD pg/g	PCDF pg/g	PCDD/F pgTEQ/g	PCB ng/g ^b	ng/g ^c	DDE ng/g
Acciughe	Nord	3,3	0,50	1,53	0,47	132	62,7	11,9
	Centro	3,2	0,34	0,90	0,34	43,2	19,8	8,6
	Sud	1,8	0,33	0,71	0,23	33,6	16,4	6,4
Calamari	Nord	1,9	0,30	0,93	0,25	81,5	37,7	5,5
	Centro	1,8	0,20	0,81	0,17	41,1	21,2	2,3
	Sud	1,2	0,25	0,48	0,12	22,0	9,53	3,7
Mitili	Nord	1,6	1,54	1,52	0,24	45,0	18,5	3,0
	Centro	1,4	0,58	0,98	0,16	6,6	1,32	1,9
	Sud	1,4	0,49	0,89	0,11	13,5	5,95	1,6
Scampi	Nord	0,6	0,69	0,62	0,14	7,6	4,10	0,9
	Centro	0,5	0,68	0,65	0,085	2,2	0,20	1,0
	Sud	0,7	0,46	0,77	0,12	4,5	2,43	1,6
Sgombri	Nord	8,7	0,34	2,49	0,59	177	80,6	17,7
	Centro	7,3	0,53	2,38	0,94	157	75,3	32,4
	Sud	5,6	0,32	3,05	1,07	94,1	46,1	26,0
Triglie	Nord	4,9	0,60	1,49	0,56	90,2	43,4	8,5
	Centro	4,4	0,29	1,09	0,37	42,9	22,3	8,1
	Sud	4,3	0,53	0,99	0,37	41,1	19,8	9,8
Vongole	Nord	1,0	0,53	1,38	0,13	10,3	3,93	0,8
	Centro	1,1	0,50	0,55	0,10	5,6	1,88	0,7
	Sud	0,9	0,38	0,38	0,066	3,7	1,24	0,8

Tabella 5-15 Livelli di concentrazione delle PCDD e dei PCDF, dei PCB totali, e del DDE (sul peso fresco della parte edibile) in campioni di prodotti ittici del mare Adriatico.

Dati tratti dal Rapporto ISTISAN 04/4 (Ferrara e Funari, 2004).

TEQ: 2,3,7,8-T4CDD tossiequivalenti; b PCB totali; c Somma dei congeneri: PCB 28, 52, 101, 118, 138, 153 e 180 (PCB 138 esce insieme a PCB 163).

28, 52, 101, 118, 138, 153 e 180 (PCB 138 coeluito con PCB 163).

I valori delle concentrazioni, relativi a PCDD-PCDF del presente elaborato, sono concordi oltre che con le due ricerche sopra citate anche con i valori riportati nel rapporto ISTISAN 04/4 (Ferrara e Funari, 2004) (Tabella 5-15).

Dal punto di vista della distribuzione dei congeneri nelle varie specie analizzate, al tempo 2 per *Sardina pilchardus*, *Gobius paganellus* e *Scomber scombrus* (Figura 5-20) prevalgono 2,3,7,8 T4CDF e 2,3,4,7,8 P5CDF come per *Euthynnus alletteratus* al tempo 1 (Figura 5-19); per le altre specie OCDD e OCDF caratterizzano il pattern.

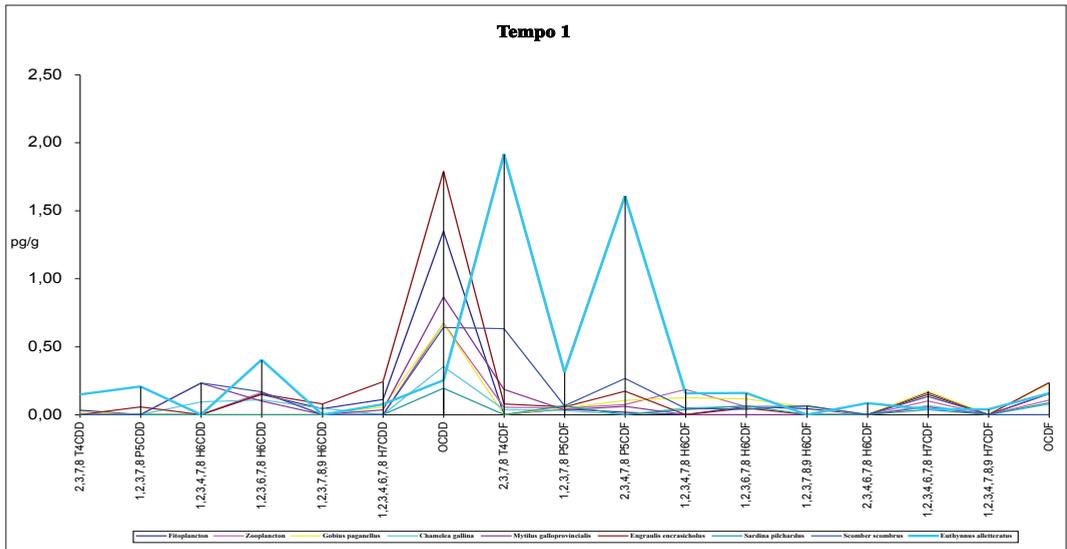


Figura 5-19 Concentrazioni di PCDD e PCDF relative al peso fresco:Tempo 1.

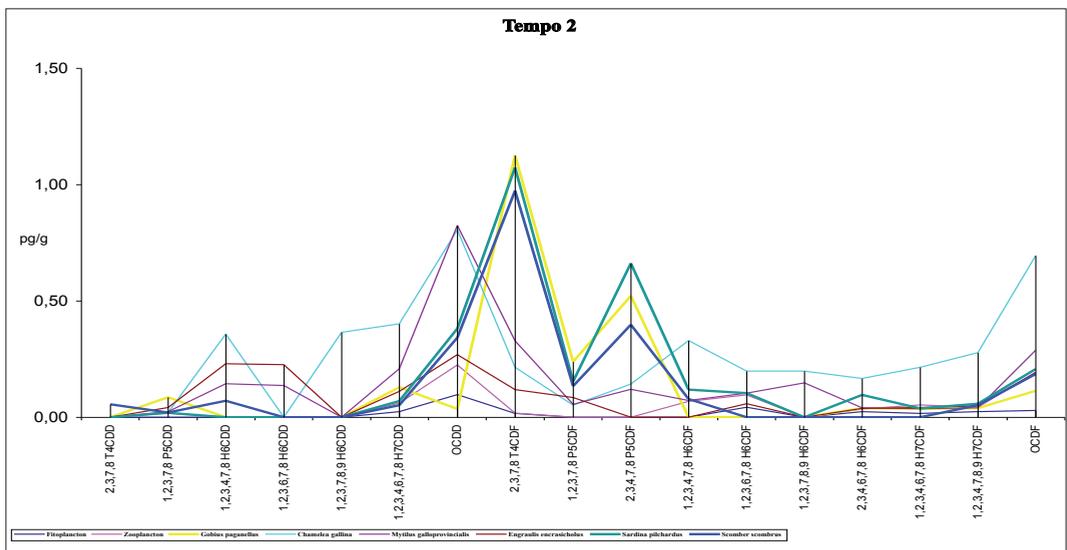


Figura 5-20 Concentrazioni di PCDD e PCDF relative al peso fresco:Tempo 2.

In tutti i campioni analizzati, prelevati da due specie differenti di foche del mar Baltico (Koistinen *et al.*, 1997), sono state trovate tracce 2,3,7,8 TCDD e TCDF. I congeneri dominanti per entrambe le specie furono 2,3,7,8 T4CDD, 1,2,3,7,8 P5CDD, 1,2,3,6,7,8 HXCDD, 2,3,7,8 T4CDF e 2,3,4,7,8 P5CDF mentre i patterns (distribuzione dei congeneri) variavano sensibilmente fra una specie e l'altra. Gli esemplari più giovani presentavano in generale una concentrazione più bassa. I patterns di PCDD/Fs nei sedimenti erano molto diversi rispetto al biota. Gli epta e octa PCDD/Fs, che nei campioni di foche erano irrilevanti, dominavano nei sedimenti. Alta concentrazione di OCDF può essere attribuita ad inquinamento da pentaclorofenolo. Concentrazioni importanti di H7CDD/Fs, OCDD/F derivano dai clorofenoli (nome commerciale Ky-5). Concentrazioni crescenti di congeneri con grado di clorurazione più elevato vengono originati da processi di termocombustione e successivo trasporto per via aerea.

Muir *et al.* (1996) analizzando campioni di grasso e fegato di balena (*Delphinapterus leucas*) relativi all'estuario del fiume St. Lawrence riscontrarono alti livelli di PCDFs (8 ng Kg⁻¹ - 31 ng Kg⁻¹) in un esemplare maschio. I congeneri più abbondanti (non 2,3,7,8) erano tre H6CDFs, dominati da 1,2,4,6,8,9 H6CDF e due P5CDFs (1,2,4,7,8 P5CDF e 1,2,4,8,9 P5CDF). Il pattern di P5CDFs osservato nella balena rifletteva una tipica sorgente inquinante da pentaclorofenolo e non un inquinamento imputabile ad Aroclor o combustione.

Kannan *et al.* (2002) in tessuto di tonno pescati nel Mar Ionio evidenziarono, come congeneri più abbondanti, 2,3,4,7,8 P5CDF e 1,2,3,4,7,8 H6CDF.

Le due specie di molluschi (*Mytilus galloprovincialis* e *Chamelea gallina*) sono organismi filtratori che si nutrono di plancton e detriti organici e perciò sono in grado di ac-

cumulare direttamente i contaminanti dalla colonna d'acqua, dai sedimenti e dal materiale sospeso. Per tale motivo i patterns dei molluschi potrebbero ricalcare quelli dei sedimenti dove si riscontra maggiore presenza di OCDD e OCDF.

5.3.2. Policlorobifenili

Nei due tempi di indagine l'andamento delle concentrazioni di PCB nelle diverse specie è simile. Le più alte concentrazioni sono state rilevate in *Euthynnus alletteratus* (8001,7ng/g di grasso), seguono in ordine decrescente, *Scomber scombrus*, *Gobius paganellus*, *Sardina pilchardus*, *Engraulis encrasicolus*, *Mytilus galloprovincialis*, *Chamelea gallina*, e zooplancton. (Appendice 11 e Appendice 12).

La differenza di concentrazione fra i due tempi considerati per *Sardina pilchardus* (circa 30 volte più elevata al tempo 1 individuato in primavera) potrebbe essere imputabile al diverso contenuto lipidico nei due tempi esaminati (0,70% in tempo 1 e 7,87% in tempo 2).

Una considerazione va fatta per *Gobius paganellus*, che se paragonato a *Sardina pilchardus*, per similitudine di taglia, presenta maggiori concentrazioni di PCB, probabilmente attribuibili alle abitudini bentoniche della specie che vive a stretto contatto con i fondali e in aree portuali.

Zooplancton, *Chamelea gallina* e *Mytilus galloprovincialis* presentano concentrazioni più basse. La contaminazione da PCB, anche se non in modo rigoroso, risulta essere la più significativa dal punto di vista del bioaccumulo rispetto agli altri microinquinanti ricercati. Si osserva infatti un'apprezzabile differenza numerica fra i diversi livelli trofici. In relazione al tipo di congeneri i più abbondanti sono PCB 153, PCB 138, PCB 180 e PCB187 (Figura 5-21 e Figura 5-22).

L'eccezione è rappresentata dalla specie *Engraulis encrasicolus* al tempo 1 che presen-

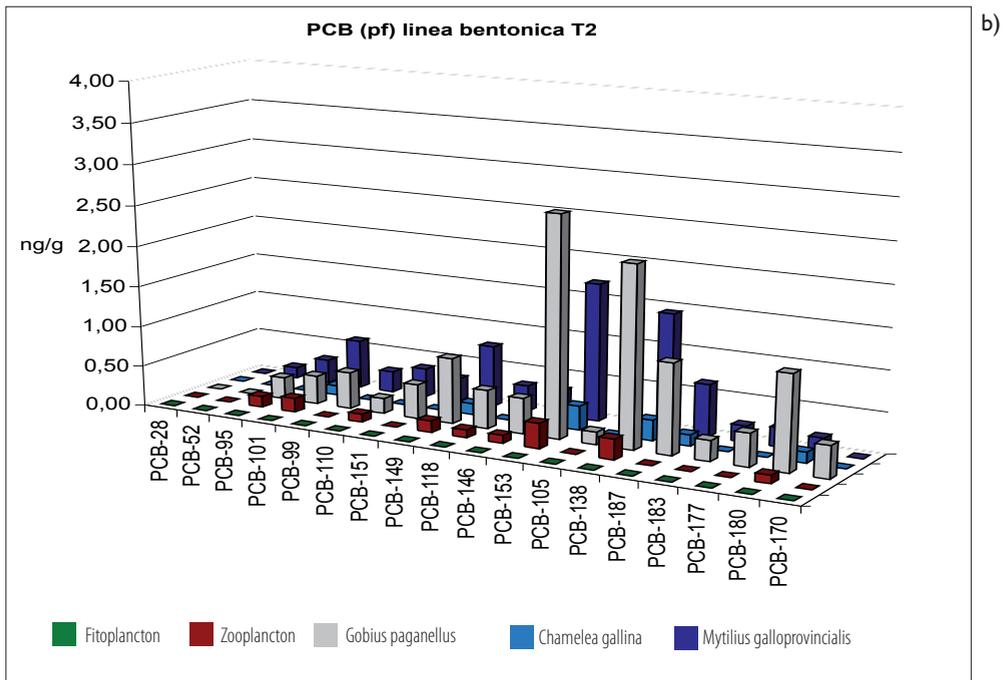
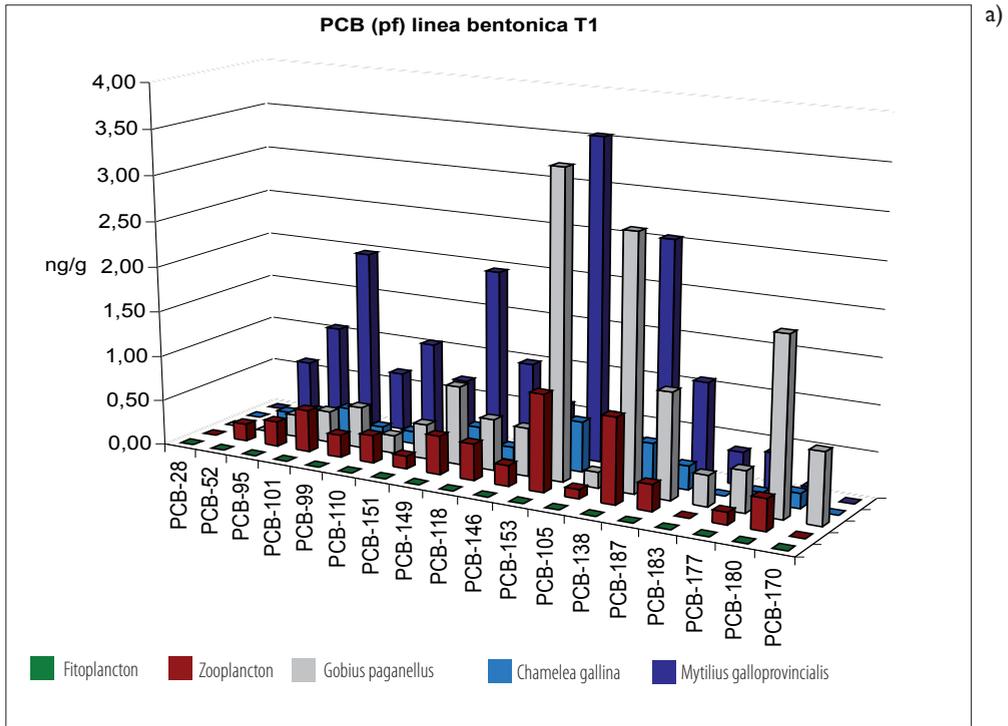
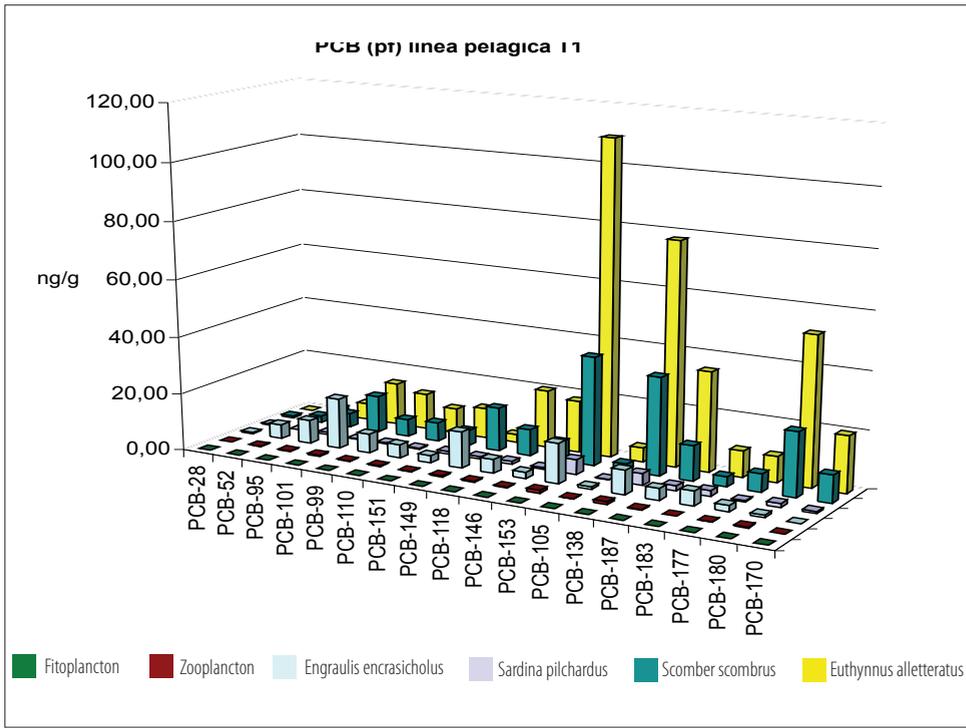
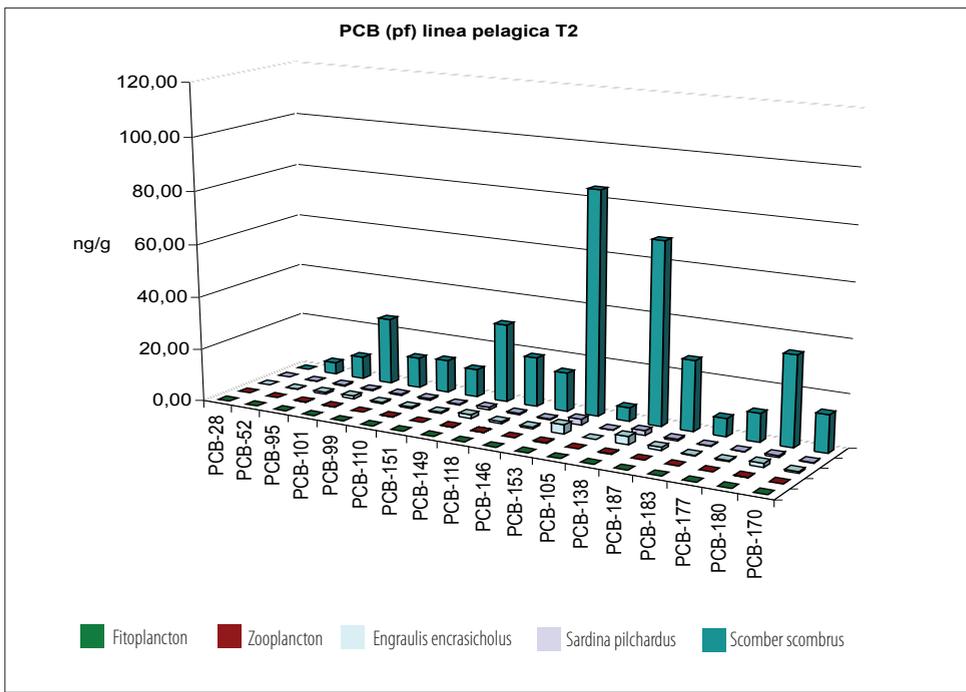


Figura 5-21 Concentrazioni di PCB per i due tempi di indagine, relative al peso fresco: a) linea bentonica Tempo1, b) linea bentonica Tempo2, c) linea pelagica Tempo1, d) linea pelagica Tempo2.

c)



d)



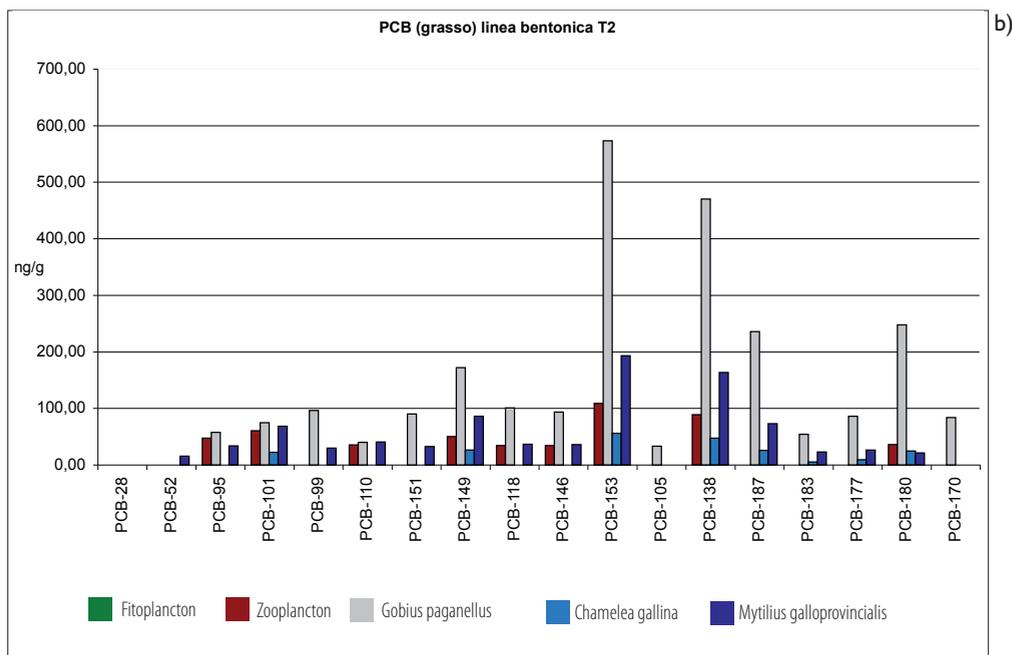
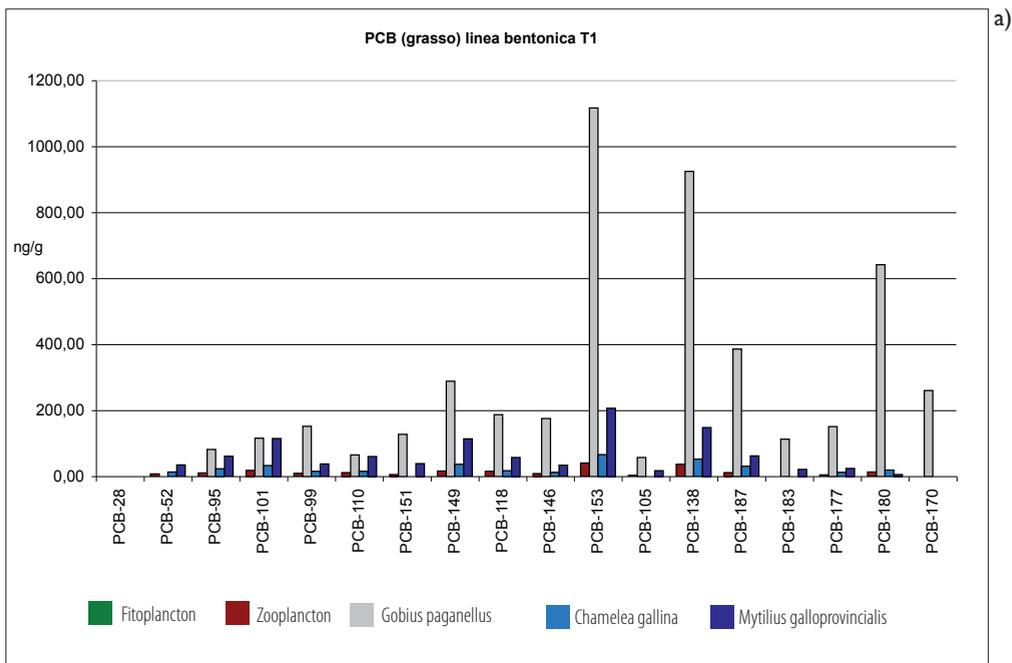
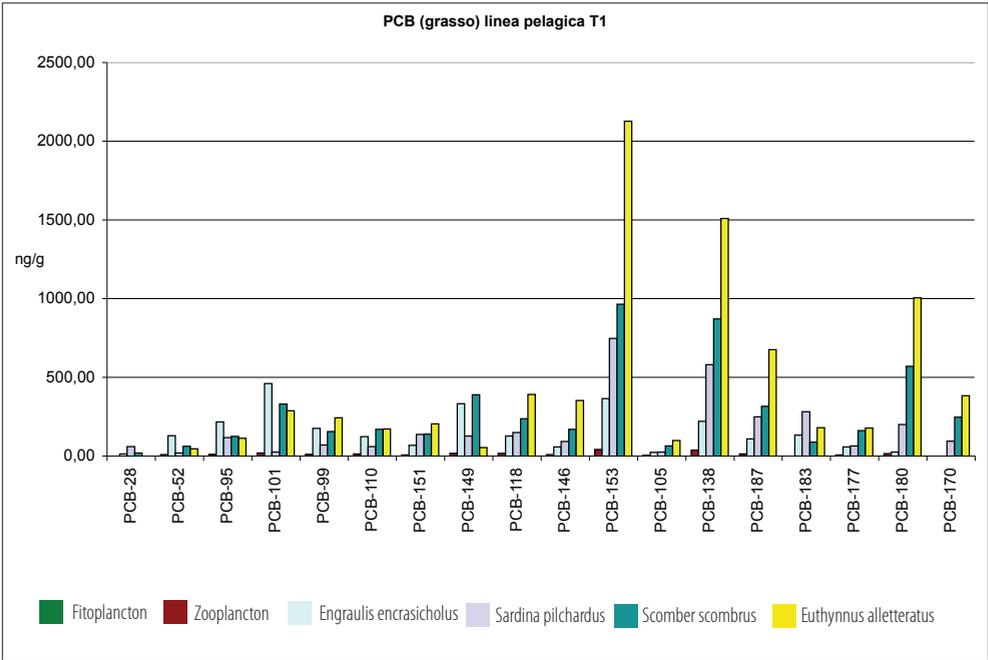
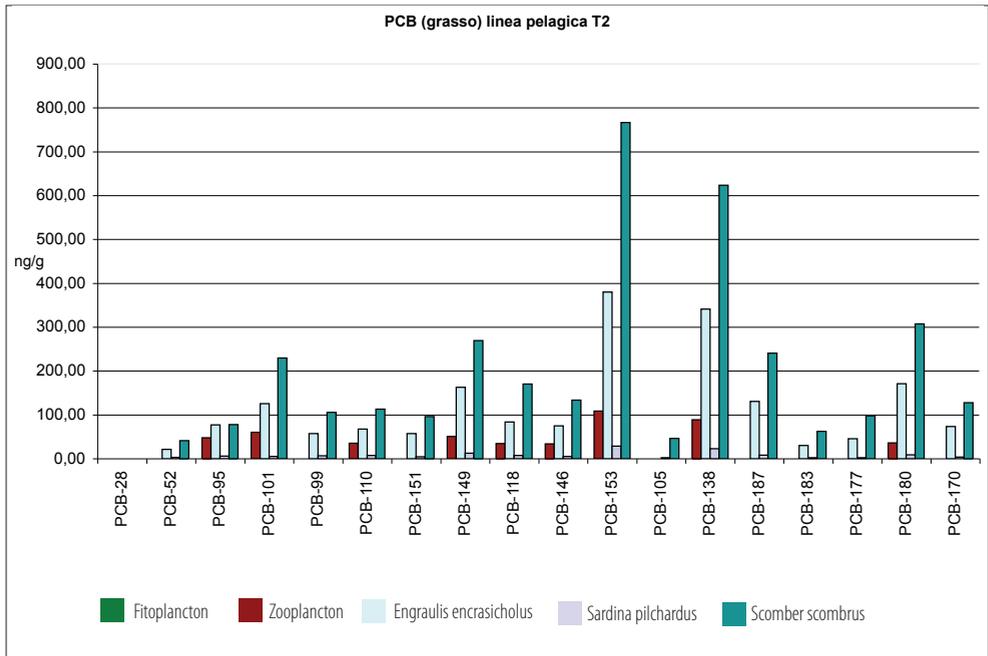


Figura 5-22 Determinazione di PCB sulla componente grassa, nei due tempi di indagine: a) linea bentonica Tempo I, b) linea bentonica Tempo2, c) linea pelagica Tempo I, d) linea pelagica Tempo2.

c)



d)





ta PCB-101 a concentrazione più elevata, si tratta comunque di un pentacloro sostituito. Ormai è noto in letteratura che gli isomeri maggiormente riscontrati, nell'ambiente e nel biota, appartengono principalmente ai penta, esa ed eptacloro sostituiti, evidenziando un'origine industriale. Inoltre i tre congeneri menzionati rispondono alle caratteristiche stereochimiche citate nel paragrafo 5.1.2, in base alle quali tali composti sono molto persistenti per molte specie di biota (Metcalfe e Metcalfe, 1997).

La Comunità Europea (Regolamento CE N. 1881/2006) ha stabilito livelli massimi ammissibili per i PCB diossina simili al fine di includere anche queste sostanze nel calcolo del TEQ (8 pg OMS-PCDD/F-PCB-TEQ/g peso fresco).

I lavori pubblicati sulla ricerca di PCB nelle specie ittiche sono cospicui e molto articolati. In uno studio tossicologico (Corsolini *et al.*, 1996) realizzato su dieci tonni, catturati presso Favignana (Isole Egadi), i valori delle concentrazioni medie di PCB (somma di 55 congeneri) era pari a 213 ng/g peso fresco nel muscolo e 87 ng/g nel fegato. Sono di seguito riportati dati bibliografici tratti da Amico *et al.* (1979) che riportano concentrazioni di 5000 ng/g peso fresco su tonni campionati lungo le coste meridionali italiane, Geyer *et al.* (1984) riscontrano

340 ng/g p.f. in tonni provenienti dal Mare Adriatico settentrionale e Impellizzeri *et al.* (1982) infine riportano valori compresi fra 5 e 5000 ng/g p.f. in tonni pescati nel mar Ionio e nel Tirreno.

Nella Tabella 5-13 estratta da Di Domenico *et al.* (1997) sono presi in esame polioclorobifenili totali, determinati su campioni di *Mytilus galloprovincialis* e *Chamelea gallina* prelevati nella laguna di Venezia. In questo caso per PCB totali si intende la somma di 50 congeneri analiticamente rilevanti suddivisi in gruppi di omologhi tri fino a octaclorosostituiti.

L'intervallo dei dati (Appendice 9 e Appendice 10) del presente lavoro sono confrontabili con quelli di Di Domenico *et al.* (1997), purtroppo mancano valori sulla contaminazione di *Mytilus galloprovincialis* in area industriale o urbana e relativi alla contaminazione di *Chamelea gallina* in mare aperto.

Nel lavoro di Coppi *et al.* (1996) la concentrazione di PCB è risultata per i mitili 1,76 µg/Kg sul tal quale. Il valore medio delle vongole è risultato 1,39 µg/Kg e per paganelli, alici e sardine abbiamo rispettivamente 27,34, 41,10 e 56,19 µg/Kg. Questi ultimi tre valori sono ottenuti da una media di 5 valori corrispondenti a cinque mesi compresi fra marzo e novembre.

Bayarri *et al.* (2001) riportano due diagrammi a barre normalizzate che mostrano la

distribuzione dei 65 congeneri di PCB ricercati in *Mytilus galloprovincialis* e *Engraulis encrasicolus* pescati nell'Alto Adriatico. In questi istogrammi si osserva che il congener più abbondante, per entrambe le specie è PCB 153. Inoltre la sopra citata pubblicazione, conferma la prevalenza dei congeneri esacloro-sostituiti messo in evidenza in un istogramma cumulativo per tutte le specie e per tutti i congeneri di PCB. Valori di PCB paragonabili si osservano anche nel Rapporto ISTISAN 04/4 (Ferrara e Funari, 2004).

Nel presente lavoro si riscontra che l'origine dell'inquinamento da PCB, nelle diverse specie analizzate, è la stessa come evidenziato dall'identico pattern. La forte presenza di congeneri esacloro (PCB 153, 138 e 149), oltre a confermare quanto riportato da Bayarri *et al.* (2001), fa ipotizzare una probabile contaminazione da miscele di Aroclor (1254 e 1260).

5.3.3. Idrocarburi policiclici aromatici

Relativamente al tempo 2, *Chamelea gallina*, e *Mytilus galloprovincialis* sono le due specie a più elevato tenore di IPA con concentrazioni rispettivamente di 6,52 ng/g e 4,31 ng/g peso fresco (Appendice 14 e Figura 5-24).

Non si osservano aumenti progressivi di concentrazione lungo la rete trofica a conferma di quanto osservato sul metabolismo e sui meccanismi di escrezione (EFSA Journal 724, 1-114 2008). Il meno contaminato in assoluto è risultato *Scomber scombrus* con 14,91 ng/g di grasso (Appendice 16 e Figura 5-25). Nei due tempi considerati non si sono riscontrate differenze evidenti tra le concentrazioni esaminate nelle diverse specie.

Dal punto di vista della struttura chimica gli IPA più abbondanti sono quelli a 3 e 4 anelli condensati quali; pirene, fluorantene e fenantrene. Fa eccezione *Euthynnus alletteratus* che invece ha come più abbondante benzo(g,h,i)perilene, un IPA a 6 anelli condensati.

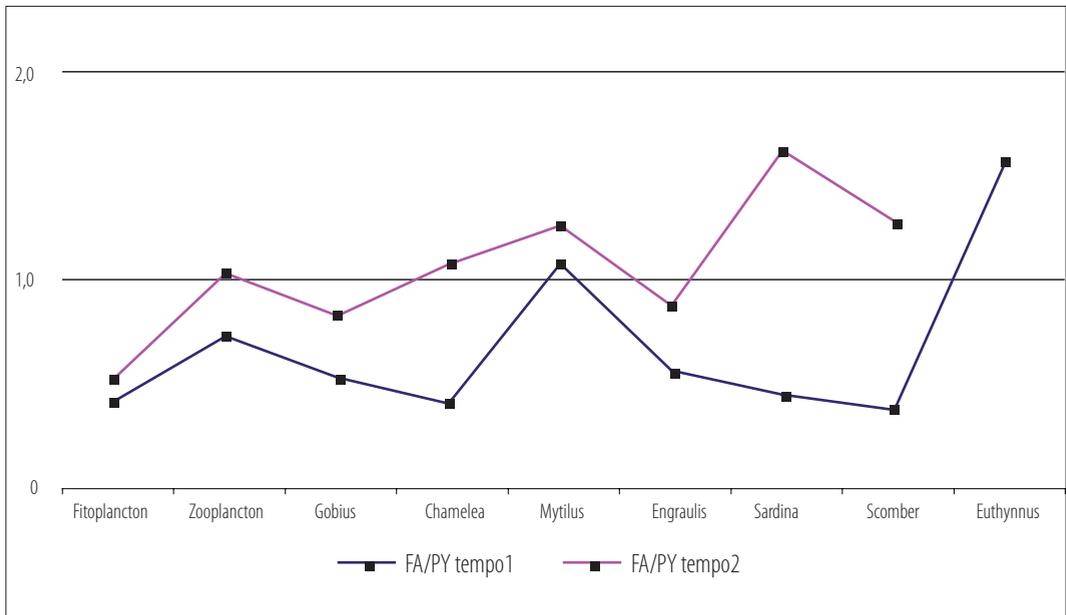
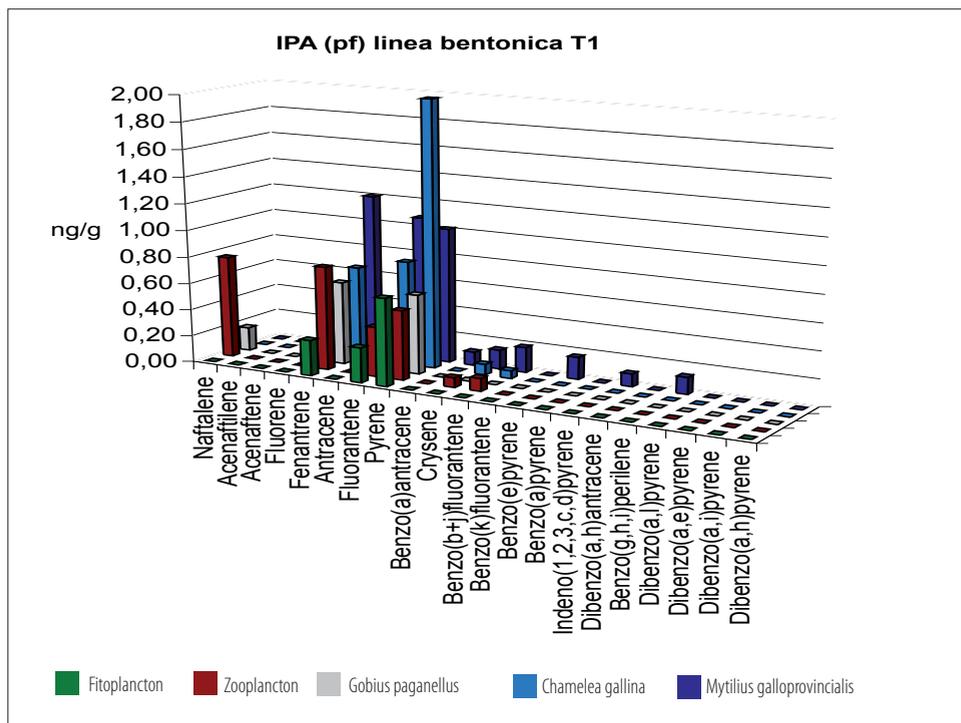


Figura 5-23 Andamento dei rapporti fluorantene/pirene nei due tempi di indagine.

a)



b)

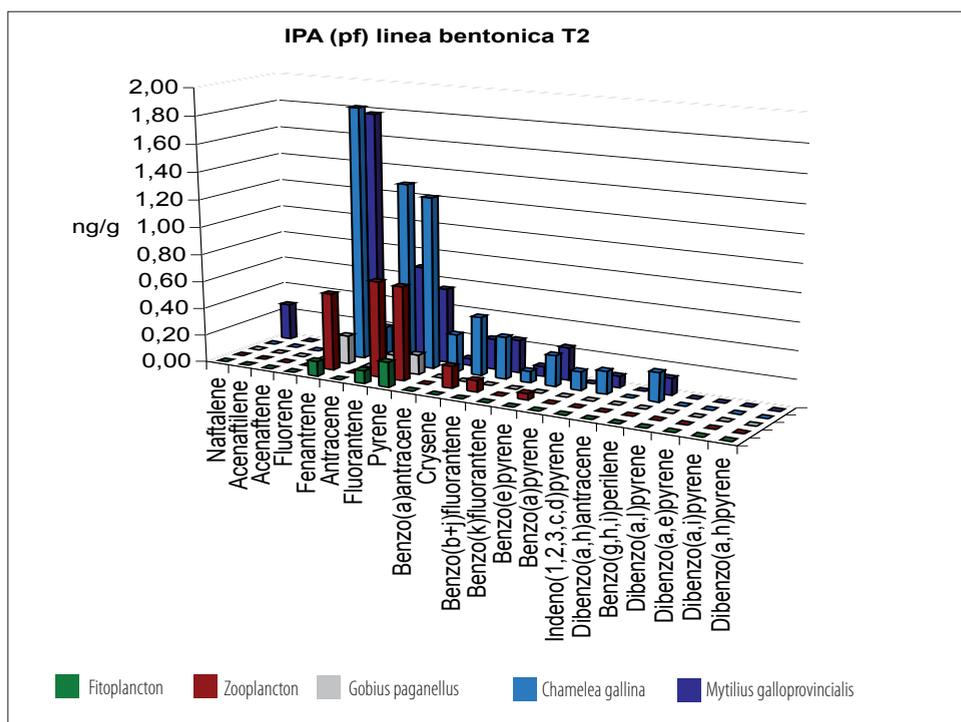
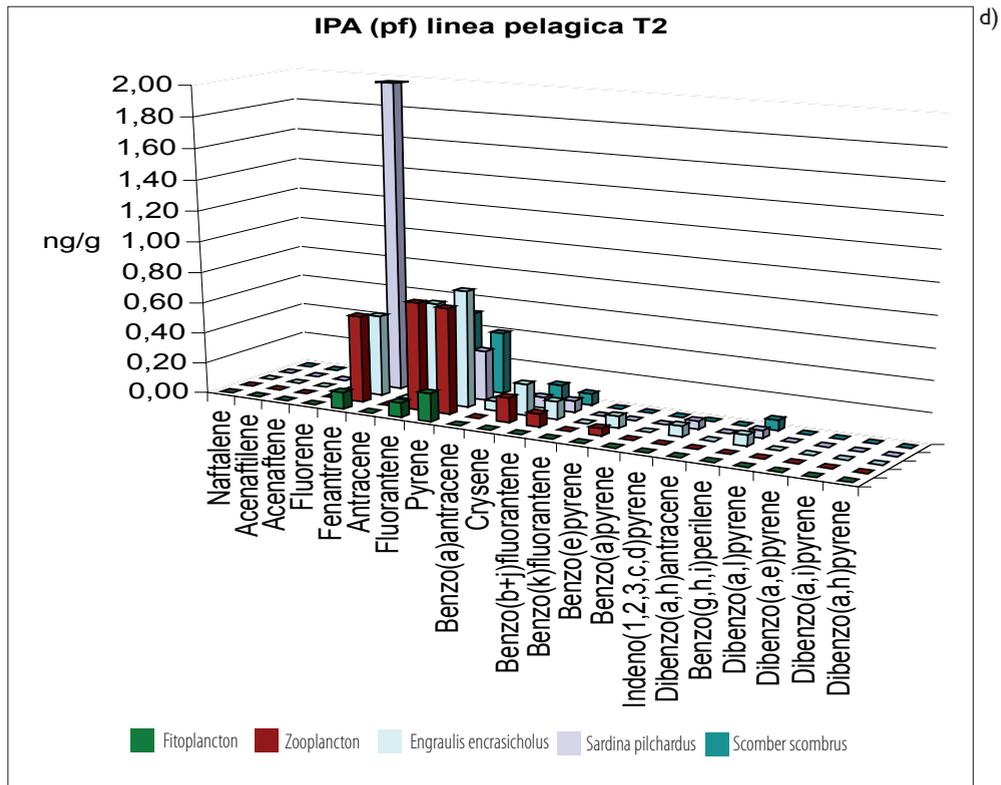
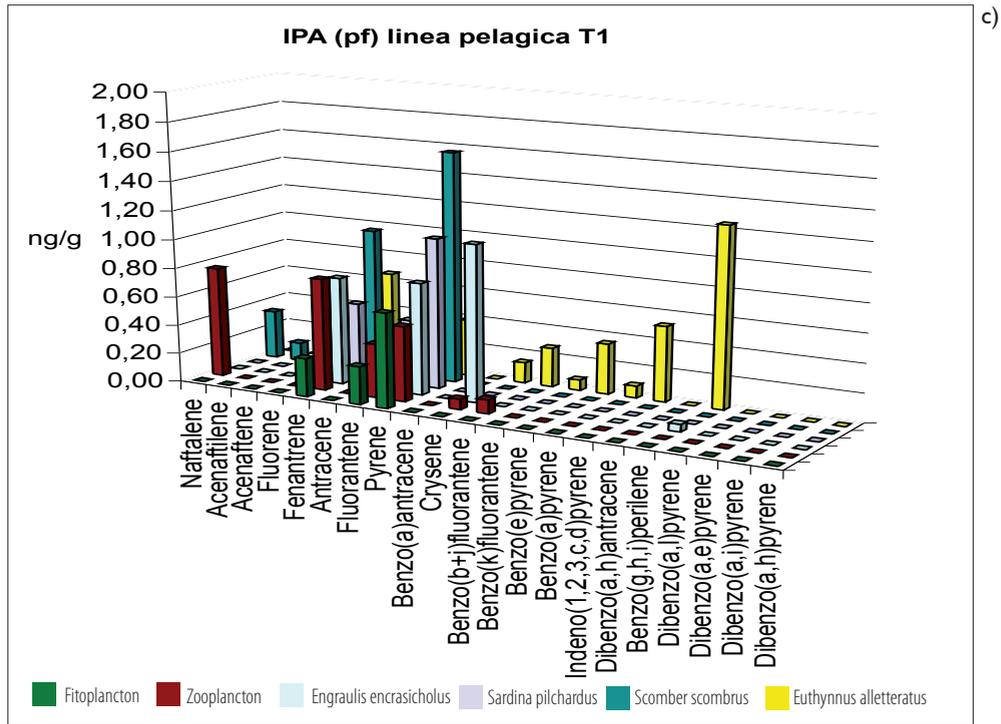


Figura 5-24 Concentrazioni di IPA per i due tempi di indagine relative al peso fresco: a) linea bentonica Tempo1, b) linea bentonica Tempo2, c) linea pelagica Tempo1, d) linea pelagica Tempo2.



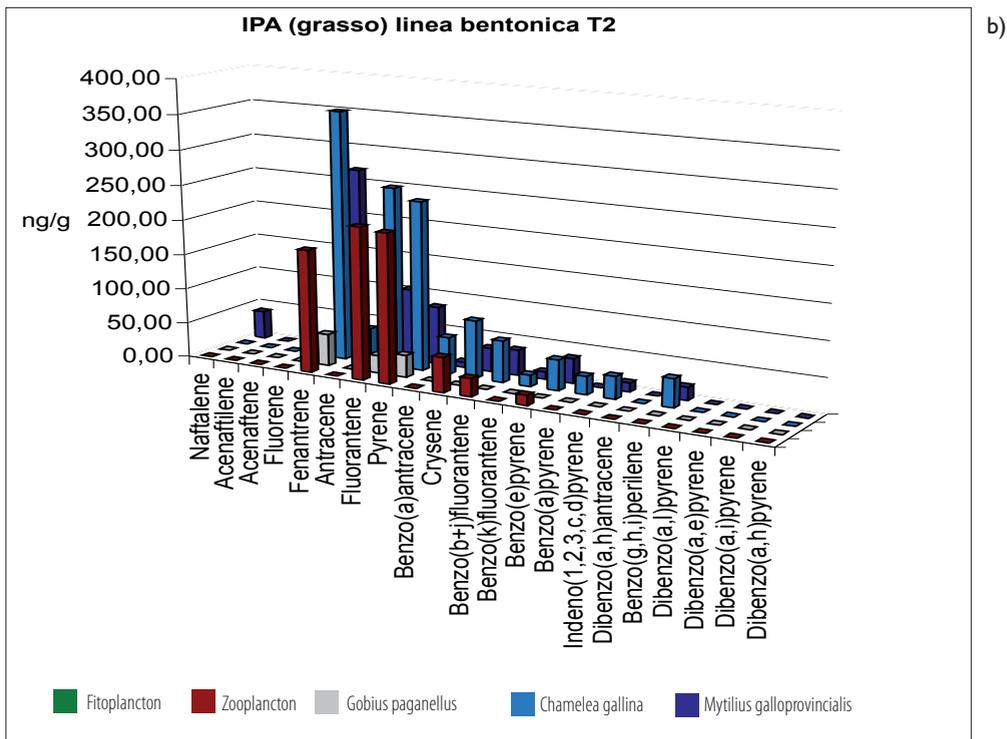
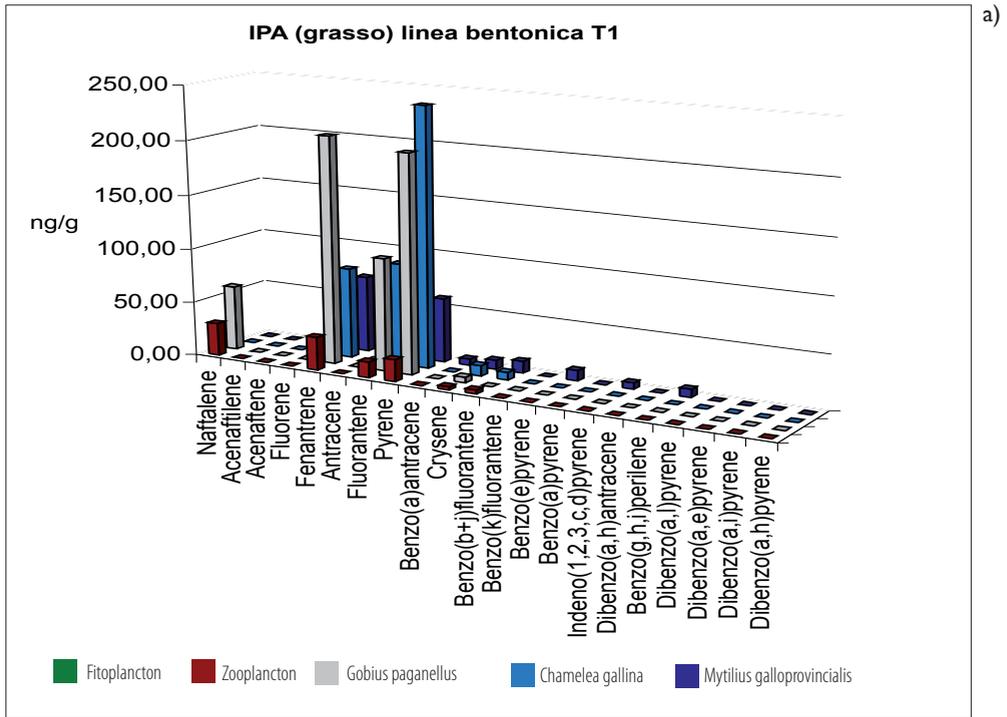
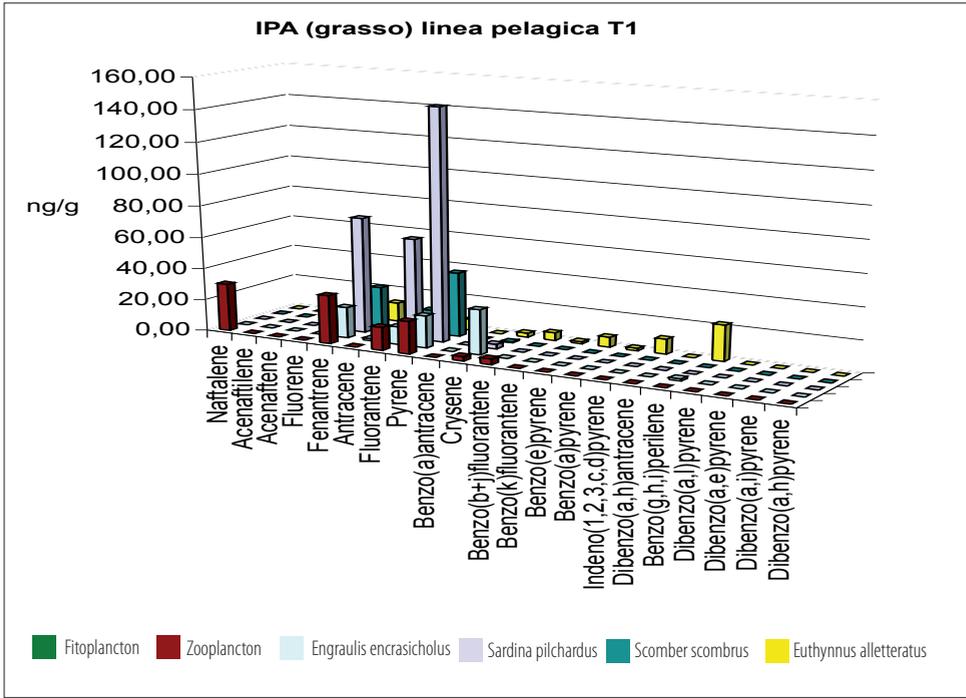
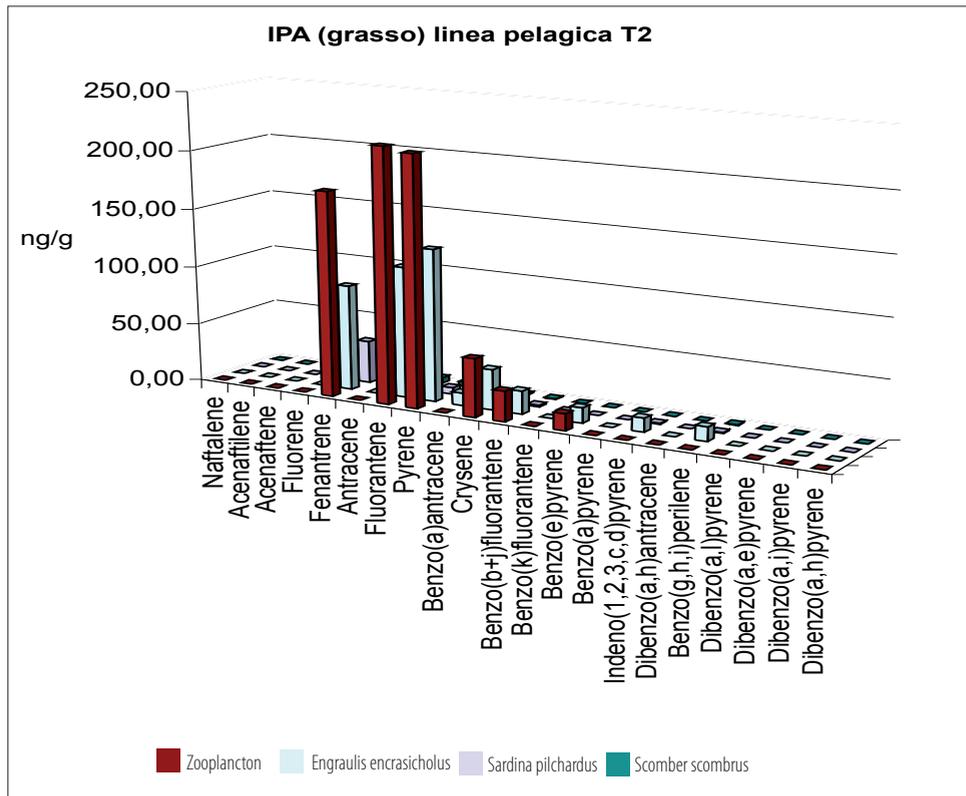


Figura 5-25 Concentrazioni di IPA sulla componente relative ai tempi 1 e 2: a) linea bentonica Tempo 1, b) linea bentonica Tempo2, c) linea pelagica Tempo 1, d) linea pelagica Tempo2.

c)



d)



IPA totali ricercati	IPA 15*	IPA 8	IPA 4	IPA 2
Naftalene	Benzo(a)antracene	Benzo(a)antracene	Benzo(a)antracene	Crisene
Acenaftilene	Crisene	Crisene	Crisene	Benzo(a)pirene
Acenaftene	Benzo(b+j) fluorantene**	Benzo(b+j) fluorantene**	Benzo(b+j) fluorantene**	/
Fluorene	Benzo(k)fluorantene	Benzo(k)fluorantene	Benzo(a)pirene	/
Fenantrene	Benzo(a)pirene	Benzo(a)pirene	/	/
Antracene	Indeno(1,2,3,c-d) pirene	Indeno(1,2,3,c-d) pirene	/	/
Fluorantene	Dibenzo(a,h) antracene	Dibenzo(a,h) antracene	/	/
Pirene	Benzo(g,h,i)perilene	Benzo(g,h,i)perilene	/	/
Benzo(a)antracene	Dibenzo(a,l)pirene	/	/	/
Crisene	Dibenzo(a,e)pirene	/	/	/
Benzo(b+j) fluorantene	Dibenzo(a,i)pirene	/	/	/
Benzo(k)fluorantene	Dibenzo(a,h)pirene	/	/	/
Benzo(e)pirene	/	/	/	/
Benzo(a)pirene	/	/	/	/
Indeno(1,2,3,c-d) pirene	/	/	/	/
Dibenzo(a,h) antracene	/	/	/	/
Benzo(g,h,i)perilene	/	/	/	/
Dibenzo(a,l)pirene	/	/	/	/
Dibenzo(a,e)pirene	/	/	/	/
Dibenzo(a,i)pirene	/	/	/	/
Dibenzo(a,h)pirene	/	/	/	/

* Mancano: Ciclopenta(cd)pirene e 5-metilcrisene

** Benzo(b)fluorantene coeluito con Benzo(j)fluorantene

Tabella 5-16 Elenco dei composti previsti per le somme secondo i criteri del gruppo CONTAM.

Specie	IPA totali ricercati	IPA non genotossici	Benzo(a) pirene	IPA 15	IPA 8	IPA 4	IPA 2
<i>Fitoplancton</i>	1,18	1,18	<0,05	I.L.	I.L.	I.L.	I.L.
<i>Zooplancton</i>	2,60	2,43	<0,05	0,17	0,17	0,17	0,07
<i>Gobius paganellus</i>	1,70	1,70	<0,05	I.L.	I.L.	I.L.	I.L.
<i>Chamelea gallina</i>	3,61	3,47	<0,05	0,14	0,14	0,14	0,08
<i>Mytilus galloprovincialis</i>	4,17	3,51	<0,05	0,66	0,66	0,43	0,14
<i>Engraulis encrasicolus</i>	3,13	2,00	<0,05	1,13	1,13	1,08	1,08
<i>Sardina pilchardus</i>	2,02	2,02	<0,05	I.L.	I.L.	I.L.	I.L.
<i>Scomber scombrus</i>	3,64	3,64	<0,05	I.L.	I.L.	I.L.	I.L.
<i>Euthynnus alletteratus</i>	4,36	2,02	0,08	2,34	2,34	0,50	0,23

Tabella 5-17 Somma degli IPA rilevati nei campioni secondo i criteri indicati dal gruppo CONTAM. I dati sono relativi al tempo I e al peso fresco.

Dall'analisi della distribuzione molecolare si osserva che il rapporto fluorantene (FA) e pirene (PY) indice quantitativo molto utilizzato (FA/PY >1 provenienza degli IPA prevalentemente pirogenica; FA/PY <1 prevalentemente petrogenica) risulta per quasi tutte le specie considerate al tempo 1 <1. Fanno eccezione *Euthynnus alletteratus* e *Mytilus galloprovincialis*. Al tempo 2 invece si osserva che nessuno dei due indici prevale sull'altro e per tutte le specie, sono sempre maggiori rispetto al tempo 1 (Figura 5-23). I valori delle concentrazioni di IPA totali (Appendice 13 e Appendice 14) ottenuti, tempo 1 1,18-4,36 ng/g e tempo 2 0,38-6,52 ng/g, nei campioni analizzati ricadono negli intervalli riportati in Di Domenico *et al.* (1997) per zona di pesca (2,8-17,0 ng/g) (Tabella 5-13). In due casi, *Chamelea gallina* e *Euthynnus alletteratus*, si riscontrano concentrazioni di benzo (a) pirene rispettivamente 0,14 (Appendice 14) e 0,08 ng/g (Appendice 13). Il limite previsto dal regolamento CE n. 1881/2006 per benzo(a)pirene è 2 ng/g di peso fresco per muscolo di pesce non affumicato e 10 ng/g di peso fresco per molluschi bivalvi. Sulla base delle decisioni del gruppo CONTAM (EFSA Journal, 2008) il benzo (a) pirene da solo non è un indicatore idoneo a rappresentare la cancerogenicità di tali miscele

di composti, gli IPA da considerare sono stati raggruppati come IPA15, IPA8, IPA4 e IPA2 (Tabella 5-16, Tabella 5-17 e Tabella 5-18).

I parametri IPA15, IPA8, IPA4 e IPA2 non risultano normati. I campioni presentano somme IPA15, IPA8, IPA4 e IPA2, come definite da CONTAM, molto basse; se confrontate con il limite di legge stabilito per il solo Benzo (a) pirene si osserva un superamento IPA15 e IPA 8 solo per la specie *Euthynnus alletteratus*.

Per i rimanenti IPA ricercati (naftalene, acenaftilene, acenaftene, fluorene, fenantrene, antracene, fluorantene, pyrene e benzo(e) pyrene) non esistono limiti normativi. Dai grafici si osserva (Figura 5-26 e Figura 5-27) che nella maggior parte dei casi gli IPA non genotossici rappresentano la quasi totalità degli IPA ricercati. Fa eccezione solo la specie *Euthynnus alletteratus* dove il gruppo IPA 8 è maggiore del 50% rispetto ai totali ricercati.

I dati sono stati anche elaborati prendendo in esame gli analiti classificati in base al numero di anelli presenti nella loro struttura. La motivazione che ha indirizzato questa scelta è quella di trovare una relazione fra ingombro sterico, caratteristiche chimico fisiche delle molecole e capacità di bioaccumulo da parte del biota in questione.

Specie	IPA totali ricercati	IPA non genotossici	Benzo(a) pirene	IPA 15	IPA 8	IPA 4	IPA 2
Fitoplancton	0,38	0,38	<0,05	I.L.	I.L.	I.L.	I.L.
Zooplancton	2,24	1,99	<0,05	0,25	0,25	0,25	0,16
<i>Gobius paganellus</i>	0,47	0,47	<0,05	I.L.	I.L.	I.L.	I.L.
<i>Chamelea gallina</i>	6,52	4,91	0,14	1,61	1,61	1,15	0,56
<i>Mytilus galloprovincialis</i>	4,31	3,51	<0,05	0,79	0,79	0,51	0,22
<i>Engraulis encrasicolus</i>	2,53	2,01	<0,05	0,52	0,52	0,38	0,20
<i>Sardina pilchardus</i>	3,15	2,91	<0,05	0,24	0,24	0,14	0,07
<i>Scomber scombrus</i>	1,54	1,30	<0,05	0,25	0,25	0,18	0,10
<i>Euthynnus alletteratus</i>	4,36	2,02	0,08	2,34	2,34	0,50	0,23

Tabella 5-18 Somma degli IPA rilevati nei campioni secondo i criteri indicati dal gruppo CONTAM. I dati sono relativi al Tempo2 e al peso fresco.

In Tabella 5-19 sono riportati gli IPA (ng/g relativi al peso fresco e al grasso) in sommaria suddivisi per numero di anelli.

La particolare composizione del fitoplancton non rende possibile esprimere i dati sul grasso in quanto assente.

Dall'osservazione degli istogrammi (Figura

5-25), non si notano particolari relazioni di bioaccumulo fra i diversi livelli trofici. Per tutto il biota, tranne che per il tonno alletterato, sono più elevate le concentrazioni degli IPA a due, tre e quattro anelli (Figura 5-28 e Figura 5-29). Il tonno alletterato si contraddistingue invece per concentrazioni

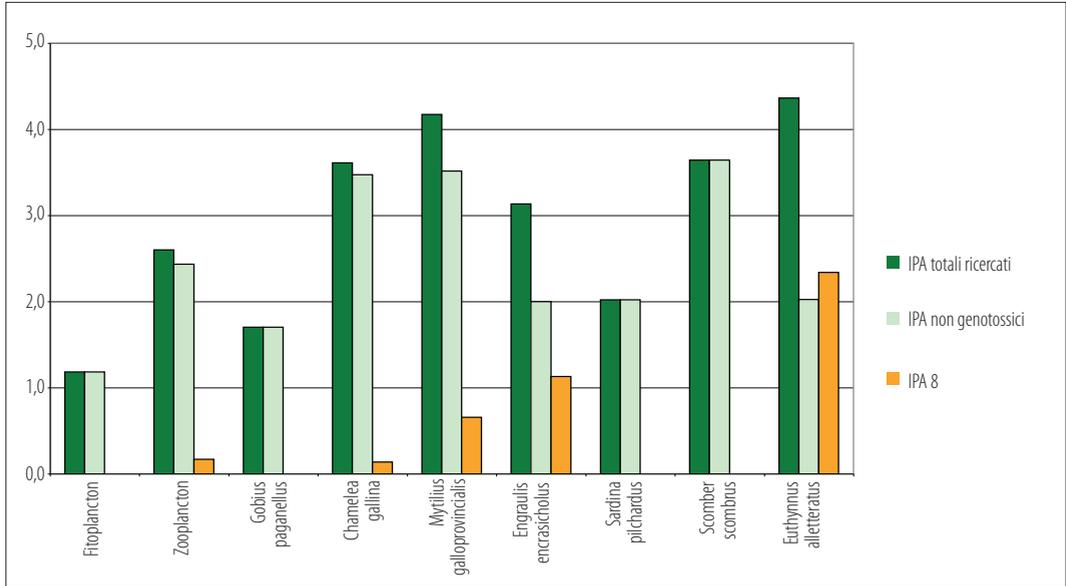


Figura 5-26 Sommatorie degli IPA totali ricercati confrontate con gli IPA non genotossici e le somme IPA8 definite da CONTAM. Dati relativi al tempo 1.

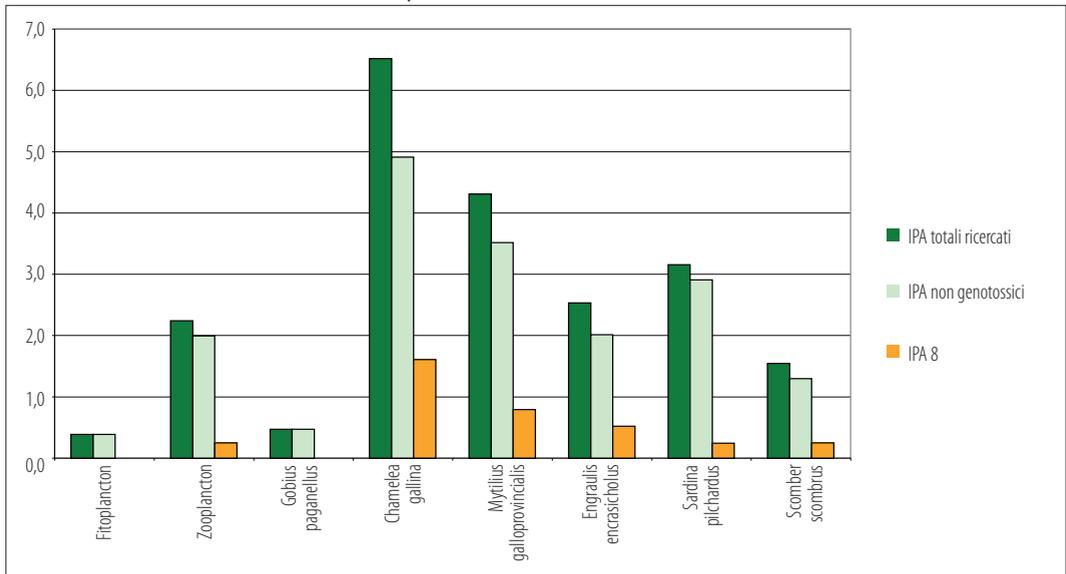


Figura 5-27 Sommatorie degli IPA totali ricercati confrontate con gli IPA non genotossici e le somme IPA8 definite da CONTAM. Dati relativi al tempo 2.

relativamente elevate di IPA a quattro, cinque e sei anelli.

I dati del presente lavoro sono in accordo con quanto trovato da Coppi *et al.* (1996) dove il contenuto di IPA nel biota (scafariche, mitili, vongole, canocchie, paganelli, alici e sardine) risultava molto modesto e quelli più pesanti non sono mai stati riscontrati.

La presenza di idrocarburi policiclici aromatici nelle specie ittiche del mare Adriatico è stata ricercata solo sporadicamente e i dati disponibili risultano difficilmente confrontabili fra loro a causa delle diverse procedure analitiche utilizzate. Il rapporto

ISTISAN 98/11 (Cubadda *et al.*, 1998) segnalava la mancanza di dati su aree dell'Alto Adriatico. Come è noto queste regioni sono interessate da importante attività di pesca e acquicoltura (es. il Golfo di Trieste e il delta del Po) e alla luce di recenti studi sui livelli di IPA nei sedimenti marini sono risultate molto contaminate da questi composti. Da un'indagine condotta nel 1990 che trattava campioni di sedimenti raccolti in undici stazioni costiere situate in Alto Adriatico, distribuite da Trieste a Ravenna, (Caricchia *et al.*, 1993) si osservava che il composto che appariva più frequentemente e ad una

	peso fresco					grasso				
	fino 3 anelli	4 anelli	5 anelli	6 anelli	TOTALI	fino 3 anelli	4 anelli	5 anelli	6 anelli	TOTALI
Tempo1										
FITOPLANCTON	0,27	0,92	I.L.	I.L.	1,18	/	/	/	/	/
ZOOPLANCTON	1,54	0,97	0,10	I.L.	2,60	60,75	38,05	3,76	I.L.	102,56
<i>Gobius paganellus</i>	0,80	0,91	I.L.	I.L.	1,70	269,16	310,08	I.L.	I.L.	579,24
<i>Chamelea gallina</i>	0,70	2,86	0,06	I.L.	3,61	83,42	342,46	6,96	I.L.	432,85
<i>Mytilus galloprovincialis</i>	1,25	2,34	0,36	0,22	4,17	73,38	137,00	20,82	13,05	244,25
<i>Engraulis encrasicolus</i>	0,80	2,28	I.L.	0,05	3,13	20,94	59,85	I.L.	1,32	82,10
<i>Sardina pilchardus</i>	0,52	1,50	I.L.	I.L.	2,02	73,42	212,43	I.L.	I.L.	285,96
<i>Scomber scombrus</i>	1,47	2,17	I.L.	I.L.	3,64	25,59	56,00	I.L.	I.L.	81,58
<i>Euthynnus alletteratus</i>	0,66	1,15	0,78	1,77	4,36	12,00	20,91	14,15	32,04	79,11
Tempo2										
FITOPLANCTON	0,11	0,28	I.L.	I.L.	0,38	/	/	/	/	/
ZOOPLANCTON	0,56	1,54	0,13	I.L.	2,24	175,28	480,24	40,76	I.L.	696,28
<i>Gobius paganellus</i>	0,21	0,26	I.L.	I.L.	0,47	45,64	57,12	I.L.	I.L.	102,76
<i>Chamelea gallina</i>	2,10	3,28	0,75	0,38	6,52	406,20	634,40	145,47	72,80	1258,87
<i>Mytilus galloprovincialis</i>	2,04	1,51	0,55	0,21	4,31	307,83	227,17	83,00	31,00	649,00
<i>Engraulis encrasicolus</i>	0,53	1,67	0,19	0,14	2,53	90,30	287,63	33,00	24,13	435,07
<i>Sardina pilchardus</i>	2,06	0,92	0,07	0,10	3,15	36,44	16,17	1,30	1,76	55,67
<i>Scomber scombrus</i>	0,39	1,02	0,07	0,07	1,54	3,74	9,82	0,71	0,65	14,91

Tabella 5-19 Valori di concentrazione di IPA espressi in ng/g relativi al peso fresco e al grasso.

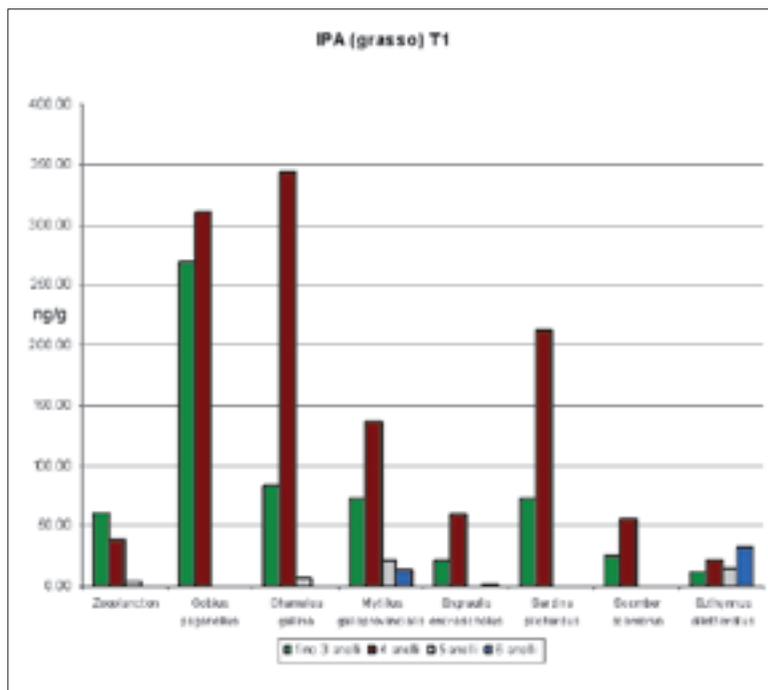


Figura 5-28 Suddivisione degli IPA, determinati al Tempo I nelle varie specie in esame, in base al numero di anni.

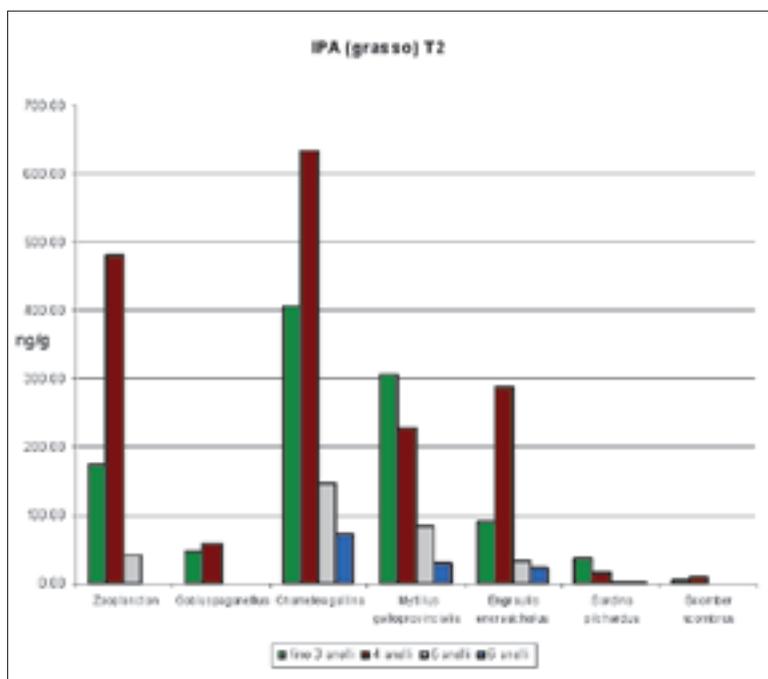


Figura 5-29 Suddivisione degli IPA, determinati al Tempo 2 nelle varie specie in esame, in base al numero di anni.

concentrazione maggiore era benzo[ghi]perilene (6 anelli) seguito da fluoranthene (4 anelli). Questo andamento si manifesta in questo lavoro solamente nel caso specifico del tonno alletterato.

Nel rapporto ISTISAN 03/22 (Bocca *et al.*, 2003) vengono riportati i dati di IPA nei pesci e nei prodotti ittici prelevati in aree contaminate (es. Golfo Arabico contaminato da petrolio, Kuwait dopo la guerra del Golfo, Costa del Mar Rosso in seguito ad operazioni petrolifere e traffico navale pesante) che risultano essere valori molto bassi, paragonabili ai valori del presente lavoro. Si osserva tuttavia che le concentrazioni degli

IPA aumentano notevolmente sui campioni dei pesci trattati termicamente (cottura e affumicatura) Tabella 5-20.

Anche nel più recente Rapporto ISTISAN 04/4 (Ferrara e Funari, 2004) vengono riportati dei risultati (Tabella 5-21) che mostrano livelli di contaminazione da IPA generalmente bassi, spesso al di sotto del limite di rilevabilità. Sebbene tali valori siano bassi, i livelli maggiori sono stati riscontrati nei mitili e nelle vongole.

Baumard *et al.* (1998) confrontarono la distribuzione di quattordici IPA fra campioni di sedimenti prelevati in una vasta area del Mediterraneo occidentale (Costa Azzurra,

IPA nei pesci e nei prodotti ittici (µg/kg)

Alimento	ref.	PHE	FA	PY	BaA	CHR	BbFA	BkFA	BaP	BeP	BghiP	IP	DBaH
Pesce	1	nr (3,5)	0,6 (1,8)		nr (1,3)	nr (2,9)	0,2 (2,0)	0,1 (0,7)	nr (1,4)		nr (0,9)	nr (1,6)	
	2				Tr-0,09				Tr-0,3		Tr-0,39	nr-0,33	
	3		0,8 (1,9)	0,8 (2,1)	0,1 (0,4)	0,6 (1,8)	0,1 (0,3)	0,04 (0,1)	0,1 (0,4)	0,1 (0,3)	0,1 (0,3)	nr	0,03 (0,08)
	4				1,6-7,5				Tr-4,5				
Pesce, contaminazione ambientale ^a	5	<2-101	<2-123	<2-145	<2	<2			<2-7,6				
Pesce e gamberi, contaminazione ambientale ^b	6	5,8-87	nr-33	nr-68	0,1-5,3	nr-16	0,1-5,8		nr-5,3		0,2-31	0,3-29	0,2-39
Pesce, contaminazione ambientale ^c	7	13	1,5	1,7	0,3	1,7	0,4	0,4	0,8		0,3	0,1	0,1
Ostriche	8	2,1-4,2	5,1-17	3,1-12	0,8-3,0	3,2-8,8 ^d	4,5-12 ^e	vedi BbFA	0,4-1,0	2,4-6,3	0,4-0,8	0,3-0,6	0,1-0,2 ^h
Trote	9	nr-0,07	0,1-0,4	0,8-2,9	0,2-1,5	0,07-0,3	nr	nr	nr	nr	nr	nr	nr
Trote affumicate	9	7,6-8,3	27-39	82-175	9,6-16	1,5-2,9	nr-0,08		5,1-8,4	nr	nr	2,0-4,2	3,2-4,0
Pesce affumicato	10	5-330	1,4-80	1,3-68	nr-11	nr-13	nr-3,9	nr-6,7 ^g	nr-5,5	nr-2,8	nr-2,8	nr-7,1	nr-37
	2				nr-86				nr-18		nr-25	nr-37	
Pesce affumicato, forni tradizionali ^h	11	(100)	(210)			(50)			(40)				
Pesce affumicato, forni moderni ⁱ	12	65	26	20	2,5	2,5	1,2	0,5	1,2		0,7	1,1	<0,1
Mitili, ostriche e ostriche affumicate	8	1,9-20	4,5-19	2,6-11	0,8-21	3,9-31 ^o	1,2-24 ^l	vedi BbFA	0,2-12	0,7-7,6	0,3-5,7	0,2-6,4	<0,1-0,5 ^h
Pesce alla griglia	11	(320)	(1080)	(390)		(390)			(400)				

Abbreviazioni degli IPA: v. Tabella 1; nr: non rivelabile; Tr: tracce.

Il singolo valore indica la concentrazione media (mediana, nelle indagini il cui rif. bibl. è 1); il valore tra parentesi indica la concentrazione massima.

^a Golfo Arabico, mare contaminato da petrolio.

^b Kuwait, dopo la Guerra del Golfo.

^c Costa del Mar Rosso: operazioni petrolifere e traffico navale pesante.

^d Forni tradizionali: 27 campioni, 3 forni; forni moderni: 35 campioni, 5 forni. Sono riportate le concentrazioni medie.

^e Insieme al trifenilene.

^f Insieme al benzo[ghi]fluorantene e al BkFA.

^g Insieme al benzo[ghi]fluorantene.

^h Insieme al dibenz[a,c]antracene.

Riferimenti bibliografici: 1) De Vos *et al.*, 1990; 2) McGill *et al.*, 1982; 3) Dennis *et al.*, 1983; 4) Emerole *et al.*, 1982; 5) Al-Yakoub *et al.*, 1993; 6) IPCS, 1998; 7) DouAbul *et al.*, 1997; 8) Speer *et al.*, 1990; 9) Zabik *et al.*, 1996; 10) Larsson, 1982; 11) Jävenpää *et al.*, 1996; 12) Karl e Leinemann, 1996.

Tabella 5-20 Dati tratti dal Rapporto ISTISAN 03/22 (Bocca *et al.*, 2003)

Corsica e Sardegna) e campioni di *Mytilus galloprovincialis*. Fu calcolato il coefficiente di correlazione fra la concentrazione di ogni xenobotico nelle due matrici (*Mytilus galloprovincialis* e sedimenti) per 14 stazioni di campionamento. I quattordici IPA determinati furono suddivisi in tre classi di livelli di correlazione: molto bassa, bassa e moderata. Da tutto questo si osservò che per tutti gli IPA la correlazione era bassa o moderata tranne che per fenantrene e antracene dove risultava molto bassa. Pertanto il tessuto di *Mytilus galloprovincialis* non rifletteva semplicemente l'inquinamento dei sedimenti. La differenza in distribuzione risultava amplificata per gli IPA più idrosolubili (come fenantrene e antracene) perché *Mytilus galloprovincialis* non sono solo soggetti ad assumere gli inquinanti adsorbiti sulle particelle solide sospese, ma anche quelli disciolti nella colonna d'acqua. La mancanza di correlazione fra concentrazione

di fenantrene e antracene in *Mytilus galloprovincialis* e sedimento potrebbe essere legata al fatto che essendo composti più idrosolubili vengono assunti direttamente attraverso le branchie e non attraverso il sistema digestivo; come invece avviene per i composti a peso molecolare più alto (meno idrosolubili) che si trovano adsorbiti sul materiale particolato. Questo risultato è coerente con alcune osservazioni formulate in un'indagine condotta alla foce del fiume Tamar (Readman et al., 1984) che indicava che gli IPA ad alto peso molecolare (più di quattro anelli) determinati nella colonna d'acqua, erano in relazione con il carico di particolato solido sospeso, ovvero tanto più era alta la densità di particelle tanto maggiore era la concentrazione di IPA pesanti, mentre gli omologhi più leggeri non erano in relazione con il particolato.

Una cosa interessante è che le relative concentrazioni nei mitili dei due isomeri

Livelli di IPA (ng/g peso umido) rilevati in campioni di prodotti ittici del mare Adriatico

Specie	Area	B(a)A	Chr	B(b)F	B(k)F	B(a)P	I(cd)P	DB(ah)A	B(ghi)P
Acciughe	Nord	0,025	0,035	<0,037	<0,028	ND	<0,059	<0,054	<0,042
	Centro	<0,120	<0,028	ND	ND	ND	<0,088	<0,198	<0,129
	Sud	<0,024	<0,015	ND	0,094	ND	<0,056	<0,063	<0,049
Calamari	Nord	<0,078	ND	<0,19	<0,13	ND	<0,33	<0,30	<0,23
	Centro	ND	ND	<0,47	<0,38	ND	ND	<0,50	ND
	Sud	<0,087	0,38	<0,17	<0,14	ND	<0,28	<0,28	<0,23
Mitili	Nord	0,81	2,3	0,88	0,57	ND	0,22	0,057	0,13
	Centro	0,34	1,7	2,2	1,9	ND	0,22	0,10	0,17
	Sud	0,25	2,1	0,76	0,35	ND	0,13	0,041	0,088
Scampi	Nord	<0,022	0,2	0,026	<0,025	ND	<0,045	<0,059	0,18
	Centro	ND	ND	<0,050	<0,042	<0,066	ND	<0,040	0,18
	Sud	ND	0,085	<0,038	0,089	ND	<0,046	<0,046	0,064
Sgombri	Nord	<0,072	<0,045	<0,12	0,089	ND	<0,14	<0,17	<0,13
	Centro	ND	<0,024	<0,069	ND	0,103	ND	<0,056	<0,047
	Sud	<0,064	<0,034	<0,078	<0,058	ND	<0,13	<0,13	<0,10
Triglie	Nord	ND	ND	<0,23	<0,16	ND	<0,37	<0,36	<0,27
	Centro	ND	ND	ND	ND	ND	ND	<0,53	ND
	Sud	ND	ND	<0,26	<0,19	ND	<0,44	<0,53	<0,39
Vongole	Nord	0,53	1,3	0,68	0,41	ND	0,17	0,036	0,22
	Centro	0,45	1,2	1,6	<0,041	0,211	0,26	0,13	0,28
	Sud	0,079	0,58	0,10	0,18	ND	0,03	<0,022	0,057

ND non determinabile

Tabella 5-21 Dati tratti dal Rapporto ISTISAN 04/4 (Ferrara e Funari, 2004).

strutturali benzo(e)pirene e benzo(a)pirene sono significativamente diverse da quelle nei sedimenti. Nei sedimenti le due concentrazioni sono pressoché identiche, mentre nei mitili la concentrazione di benzo[e]pirene è molto più abbondante. Nei mitili si osservano comunemente basse concentrazioni di benzo(a)pirene rispetto a benzo(e)pirene (Wise *et al.*, 1991). La maggiore concentrazione di benzo(e)pirene rispetto a benzo(a)pirene può essere spiegata con una maggiore biotrasformazione del secondo rispetto al primo, quindi nei mitili avviene una biotrasformazione selettiva (Figura 5-12).

Queste differenze in concentrazione potrebbero essere dovute al fatto che benzo(a)pirene subisce una biotrasformazione metabolica. Infatti quando un composto xenobiotico viene metabolizzato si trasforma in un altro composto più idrofilo che può essere espulso oppure che può interagire con altre molecole endogene.

Le concentrazioni degli IPA indagati sono state moltiplicate per i fattori di potenza relativa calcolati dai vari autori; Willett (1997), Clemons (1998) e Klimm (1999). Sono stati così ottenuti dei valori di tossicità equivalente complessivi che tengono conto della

tossicità delle diossine e degli IPA che sono in grado di indurre tossicità EROD. Per una valutazione complessiva della tossicità sarebbe stato opportuno considerare anche il contributo dei PCB-WHO che all'epoca dell'indagine non furono ricercati. Per i composti con valore di concentrazione inferiore al limite di rilevabilità, i fattori di tossicità equivalente sono stati considerati uguali al suddetto limite (Upper Bound) o pari a zero (Lower Bound).

I metodi di calcolo proposti dai diversi autori sono fra loro molto discordanti al punto che diventa problematica e difficile un'interpretazione univoca dei risultati. Infatti, dall'osservazione dei grafici ottenuti con il metodo di calcolo Upper Bound per Clemons e Willett (Figura 5-30, Figura 5-31, Figura 5-34 e Figura 5-35) emerge che la tossicità degli IPA è prevalente rispetto a quella indotta dalle diossine mentre in base all'utilizzo dei parametri di Klimm (Figura 5-38, Figura 5-39, Figura 5-40 e Figura 5-41) avviene il contrario e non si osservano particolari differenze fra UB e LB.

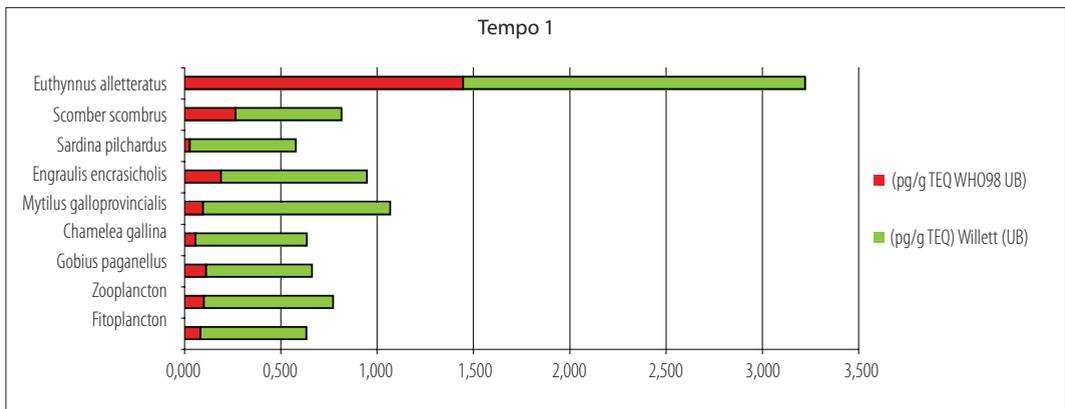


Figura 5-30 Confronto fra le sommatorie di pg/g TEQ WHO98 UB e pg/g TEQ-Willett *et al.*, 1997 UB. Dati relativi al tempo 1.

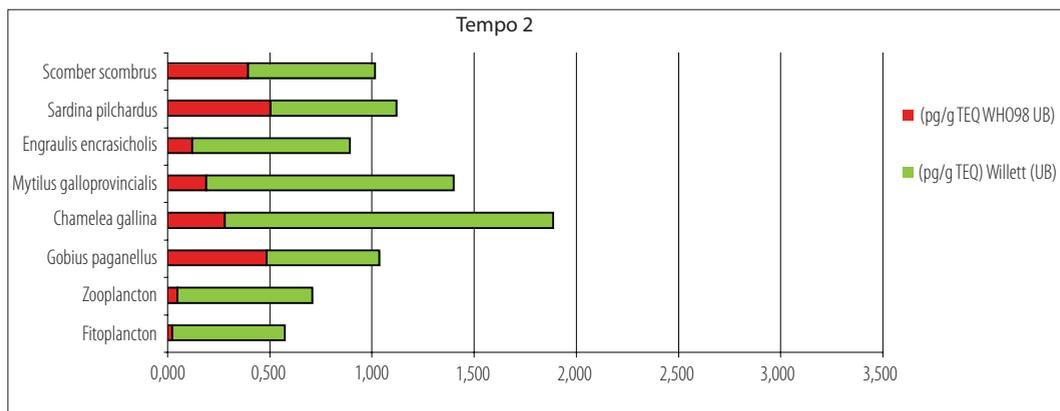


Figura 5-31 Confronto fra le sommatorie di pg/g TEQ WHO98 UB e pg/g TEQ-Willet *et al.*, 1997 UB. Dati relativi al tempo 2.

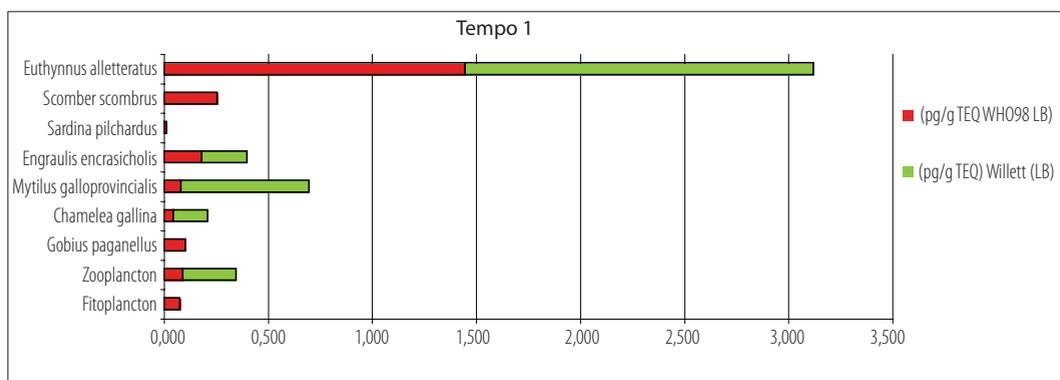


Figura 5-32 Confronto fra le sommatorie di pg/g TEQ WHO98 LB e pg/g TEQ-Willet *et al.*, 1997 LB. Dati relativi al tempo 1.

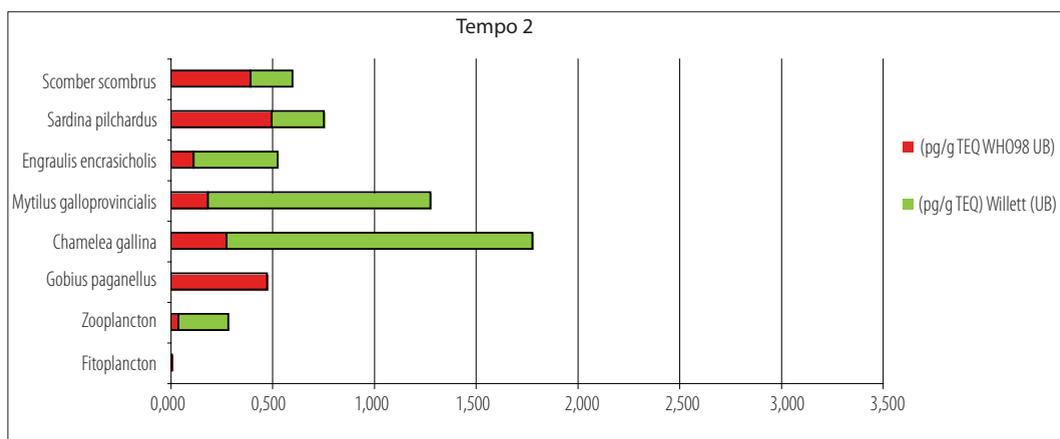


Figura 5-33 Confronto fra le sommatorie di pg/g TEQ WHO98 LB e pg/g TEQ-Willet *et al.*, 1997 LB. Dati relativi al tempo 2.

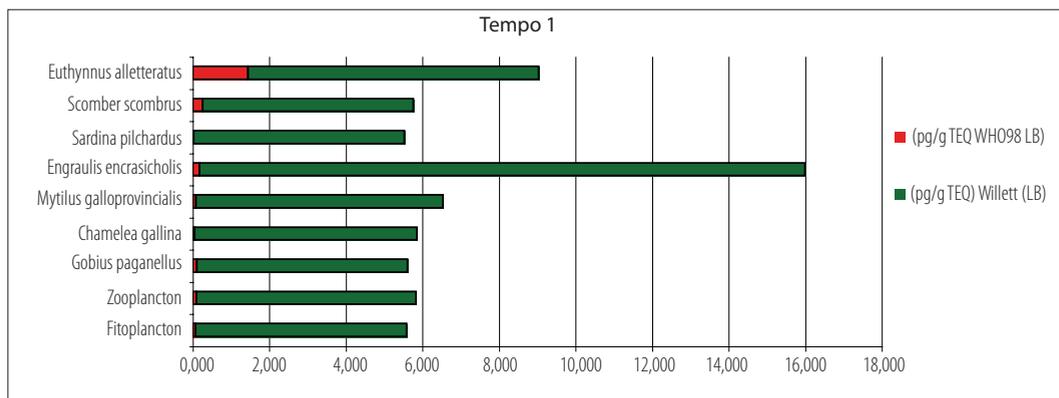


Figura 5-34 Confronto fra le sommatorie di pg/g TEQ WHO98 UB e pg/g TEQ-Clemons et al., 1998 UB. Dati relativi al tempo 1.

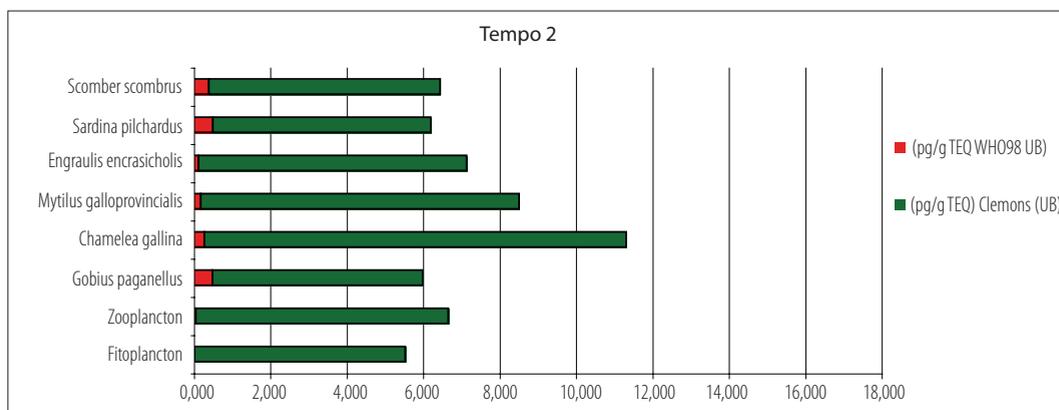


Figura 5-35 Confronto fra le sommatorie di pg/g TEQ WHO98 UB e pg/g TEQ-Clemons et al., 1998 UB. Dati relativi al tempo 2.

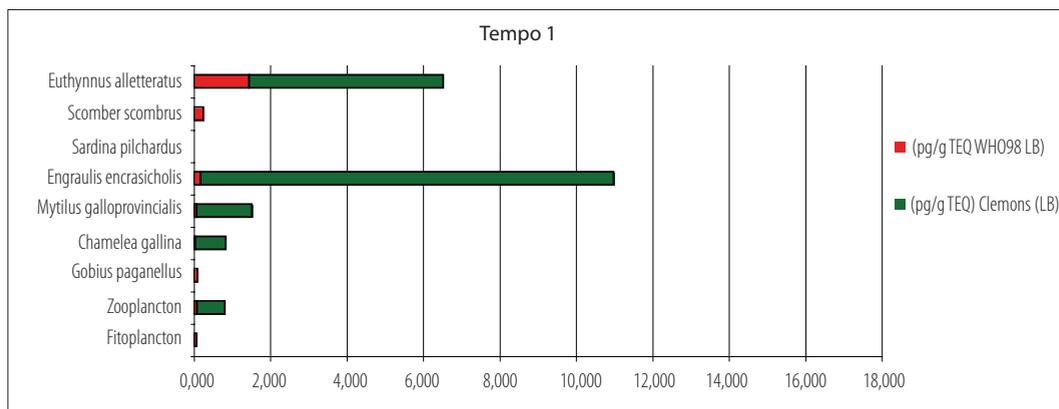


Figura 5-36 Confronto fra le sommatorie di pg/g TEQ WHO98 LB e pg/g TEQ-Clemons et al., 1998 LB. Dati relativi al tempo 1.

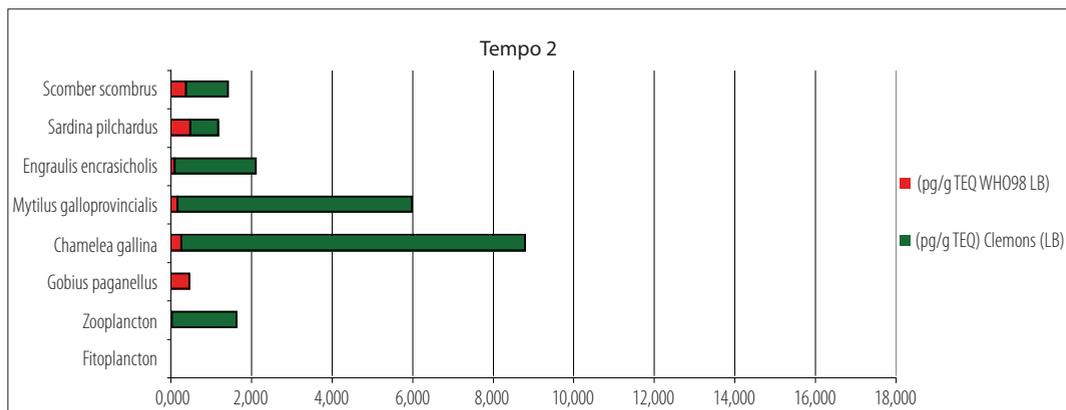


Figura 5-37 Confronto fra le sommatorie di pg/g TEQ WHO98 LB e pg/g TEQ-Clemons et al., 1998 LB. Dati relativi al tempo 2.

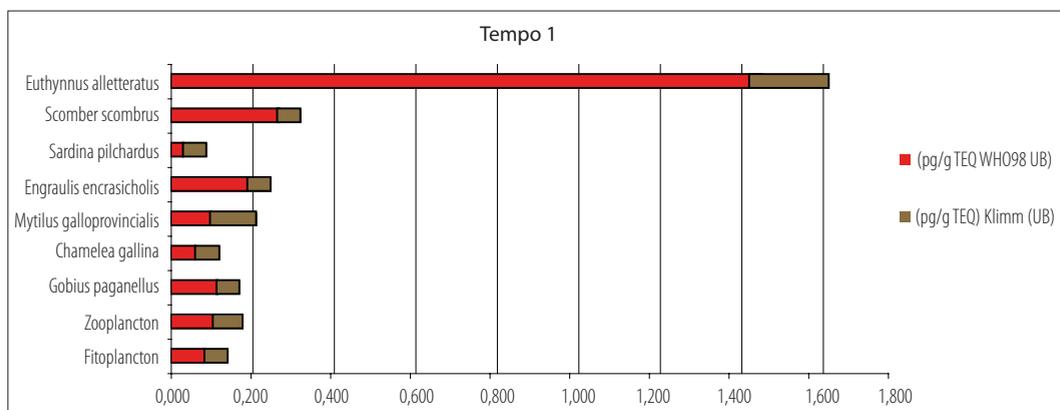


Figura 5-38 Confronto fra le sommatorie di pg/g TEQ WHO98 UB e pg/g TEQ-Klimm et al., 1999 UB. Dati relativi al tempo 1.

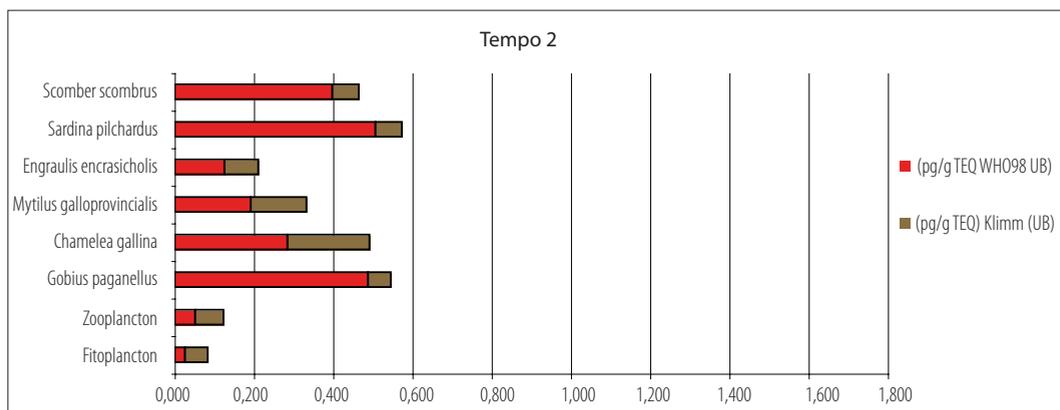


Figura 5-39 Confronto fra le sommatorie di pg/g TEQ WHO98 UB e pg/g TEQ-Klimm et al., 1999 UB. Dati relativi al tempo 2.

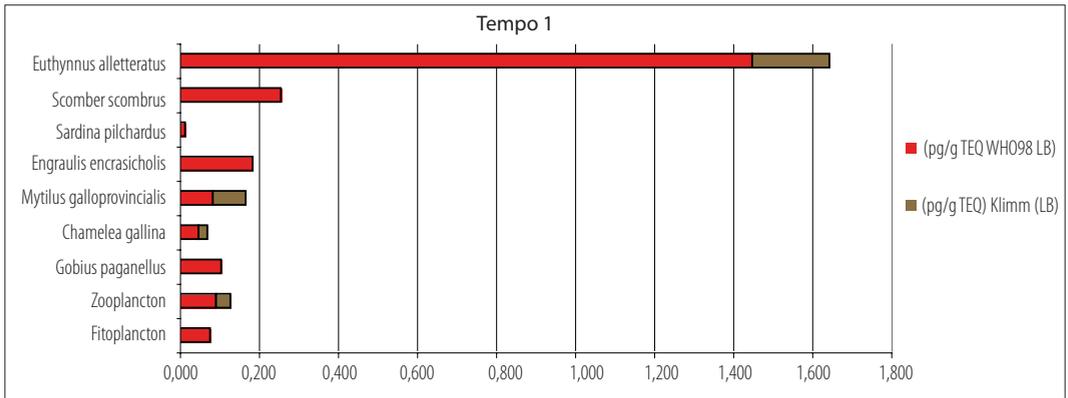


Figura 5-40 Confronto fra le sommatorie di pg/g TEQ WHO98 LB e pg/g TEQ-Klimm et al., 1999 LB. Dati relativi al tempo 1.

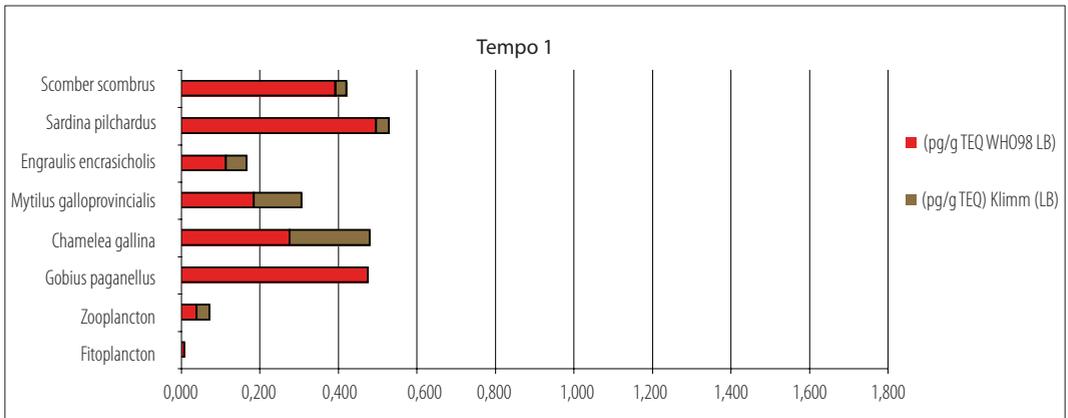


Figura 5-41 Confronto fra le sommatorie di pg/g TEQ WHO98 LB e pg/g TEQ-Klimm et al., 1999 LB. Dati relativi al tempo 2.

6. Conclusioni

6.1. Microinquinanti inorganici

6.1.1. Cadmio

Le concentrazioni di cadmio nei taxa analizzati sono estremamente variabili. Il cadmio presenta valori che vanno dal limite di rilevabilità dello strumento analitico (0,004 mg/Kg) a 1,76 mg/Kg peso secco, valore riscontrato nei mitili al tempo 1. La specie con i più bassi livelli di contaminazione è *Gobius paganellus*.

Dal confronto fra i diversi tessuti emerge come il cadmio tenda ad accumularsi principalmente negli organi interni.

L'ordine di grandezza delle concentrazioni da noi rilevate sono confrontabili con quelle disponibili in letteratura, dall'analisi dei dati si evidenzia come generalmente al tempo 1 le concentrazioni nelle diverse specie siano più elevate che al tempo 2. Dal confronto fra i diversi livelli trofici non si evidenziano processi di magnificazione biologica. Per gli aspetti applicativi è importante sottolineare che in nessuna delle specie esaminate il valore di concentrazione riscontrato è risultato superiore al limite di legge fissato dal Regolamento CEE N. 1881/2006.

6.1.2. Piombo

La concentrazione di piombo rilevata nei diversi taxa è risultata superiore al tempo 1 rispetto al tempo 2. In particolare si è verificata una variazione di rilievo nel caso di fitoplancton (15,8 mg/Kg al tempo 1 e 1,62 mg/Kg al tempo 2). Questa differenza coincide con una variazione nell'abbondanza di individui di *Noctiluca scintillans*, specie dominante nei campioni di fitoplancton prelevati al tempo 1.

In *Gobius paganellus*, specie con abitudini bentoniche, il piombo tende ad accumularsi principalmente negli organi interni, mentre

nelle specie pelagiche, quali *Engraulis encrasicolus*, *Sardina pilchardus* e *Scomber scombrus*, le massime concentrazioni si osservano nelle branchie.

Come per il cadmio non si osservano aumenti della concentrazione di piombo fra i diversi anelli della catena trofica esaminati. I valori di concentrazione rilevati per tutte le specie analizzate sono concordi con quelli osservati in letteratura. Tutti i campioni analizzati si collocano entro i limiti di legge (Regolamento CEE N. 1881/2006).

6.1.3. Mercurio

Le concentrazioni di mercurio rilevate nelle specie ittiche e nei macroinvertebrati analizzati si presentano più elevate al tempo 1 rispetto al tempo 2. Fra i diversi tessuti analizzati le massime concentrazioni sono state misurate negli organi interni e nel muscolo, tuttavia tali differenze non sono rilevanti e pertanto non si possono individuare precisi organi target.

Dal confronto fra gli organismi appartenenti ai diversi anelli della rete trofica si osserva un incremento della concentrazione di questo metallo andando verso i livelli trofici superiori. Tuttavia non si è osservato il superamento del limite di legge (Regolamento CEE N. 1881/2006). Nel tonno, anche se non è stato considerato statisticamente in quanto è stato analizzato un unico campione, è stato rilevato il valore di concentrazione più elevato (6,24 mg/Kg peso fresco), superiore anche al limite massimo consentito dal Regolamento 1881/2006 che per il tonno impone un livello soglia di 1 mg/Kg relativo al peso fresco. Questo risultato è confortato da numerosi studi che hanno indicato nel tonno l'accumulatore finale di composti del mercurio, con le implicazioni negative che ciò ha anche per la salute umana.

6.2. Microinquinanti organici

6.2.1. Policlorodibenzodiossine, policlorodibenzofurani

I livelli di contaminazione complessivi espressi in WHO-TEQ di diossine e furani riscontrati sono nell'ordine del pg/g peso fresco, coerentemente con quanto ritrovato in letteratura. Prendendo in esame i singoli congeneri si osserva che solo 2,3,7,8 TCDF e 2,3,4,7,8 PCDF presentano gradiente positivo risalendo la catena trofica.

La specie a più elevato rischio tossicologico è risultata il tonno alletterato con 1,45 pg-WHO-TEQ/g peso fresco che comunque risulta inferiore al valore massimo di 4 pg-WHO-TEQ/g previsto dal Regolamento (CE) n° 1881/2006.

6.2.2. Policlorobifenili

La contaminazione da PCB appare essere la più significativa rispetto agli altri microinquinanti sia per livelli di concentrazione che per bioaccumulo.

I livelli di concentrazione sono compresi fra 217 e 8002 ng/g di grasso e con una sovrapponibile distribuzione di congeneri a conferma della stessa origine di contaminazione presente in tutto il mare Adriatico. Per quanto riguarda il bioaccumulo la concentrazione dei PCB totali riferiti al grasso, mostrano un incremento evidente risalendo la rete trofica: zooplancton (217 ng/g)/alice (2618 ng/g), sardina(3081 ng/g)/sgombro (5057 ng/g)/tonno (8002 ng/g); zooplancton (217 ng/g)/mitili (1042 ng/g), vongole (373 ng/g), paganelli (4848 ng/g).

Come per le diossine, anche per i PCB si fa riferimento al peso fresco. Per tutte le specie esaminate i valori di concentrazione risultano compresi fra 2,95 ng/g e 412,9 ng/g a T1 e 1,08 ng/g e 387,3 ng/g a T2.

6.2.3. Idrocarburi policiclici aromatici

Le basse concentrazioni di IPA riscontrate nei vari esemplari analizzati non mettono in evidenza fenomeni di bioaccumulo lungo la rete trofica esaminata in questo lavoro. La distribuzione dei singoli idrocarburi policiclici aromatici risulta sovrapponibile per tutte le specie (i più rappresentativi sono pirene, fenantrene e fluorantene). Per il tonno alletterato invece, oltre ai sopra citati IPA si riscontra la presenza di composti più pesanti (benzo(e)pirene, benzo(a)pirene, indeno(1,2,3-cd)pirene e benzo(g,h,i)perilene) ed un rapporto FA/PY = 1,6 che denota una probabile contaminazione pirogenica. A tale proposito sarebbe necessario un maggiore approfondimento circa la ricerca di IPA specifici di una data sorgente (ad esempio il retene è un IPA di origine naturale, il ciclopenta[cd]pirene è un marker della combustione che avviene negli autoveicoli ecc.) (Simpson et al., 1995).

Le specie che in generale sono risultate più contaminate dal punto di vista tossicologico sono *Eutynnus alletteratus*, *Engraulis encrasicolus*, *Mytilus galloprovincialis* e *Chamelea gallina*.

6.3. Considerazioni finali

A conclusione di questo lavoro, alcune considerazioni vanno fatte sulla strumentazione usata presso il laboratorio Microinquinanti della Sezione di ARPA di Ravenna, soprattutto relativamente alla determinazione dei IPA, PCB e PCDD-PCDF.

I dati, che sono stati forniti non come somatoria indefinita, ma per sostanza o per isomero o congenere specifico, sono stati ottenuti utilizzando "spettrometri di massa in bassa risoluzione". Tale definizione, se può ritenersi appropriata per i singoli quadrupo-

li, diventa riduttiva per un sistema più complesso, quale il triplo quadrupolo (GC/MS/MS) interfacciato ad un gascromatografo.

La determinazione delle diossine/furani, data la loro presenza in tracce negli alimenti, normalmente vengono eseguite con spettrometri magnetici in alta risoluzione. La possibilità di utilizzare il triplo quadrupolo per il presente lavoro, creò in noi analisti non poche perplessità e dubbi sulla riuscita del compito. Dopo aver ripetutamente analizzato le diossine/furani con questa tecnica GC/MS/MS, su matrici certificate di grasso di carpa (CARP-I NRCC) e visti gli ottimi risultati, sia di sensibilità che di riproducibilità, il tutto ci apparve fattibile.

Senza nulla togliere allo spettrometro magnetico ad alta risoluzione (che dovrebbe quanto prima essere fornito in dotazione al laboratorio Microinquinanti Organici di Ravenna), il triplo quadrupolo si è dimostrato essere un ottimo strumento, che pur operando secondo principi diversi dall'alta risoluzione, consente di giungere a risultati simili se non identici, a tutto vantaggio della qualità e conferma del dato.

Va considerato, inoltre, che le determinazioni effettuate con tecnica GC/MS/MS, dato il bassissimo rumore di fondo e l'elevata selettività (reazione di collisione specifica per classi di analiti), soddisfano sempre più la crescente richiesta di analisi differenziate per isomeri o congeneri che hanno differente tossicità e che sono difficilmente determinabili con semplici quadrupoli, causa le molte sostanze interferenti.

Altra considerazione importante è che un laboratorio di eccellenza che effettua tali analisi su matrici diverse (terreni, fanghi, sedimenti, acqua, aria ed alimenti) per tutta la Regione e non solo, deve poter utilizzare più strumenti; alcuni configurati in modo identico, per non sovraccaricare troppo gli stessi di campioni, evitare contaminazioni e

avere un adeguato tempo per la loro manutenzione, altri configurati diversamente (sistema di iniezione, polarità e lunghezza colonna, sistema di rivelazione, etc) per una maggiore versatilità analitica, in aggiunta a scopi di conferma.

Al di là delle considerazioni di carattere strumentale, ciò che appare è che le sostanze ricercate, pur essendo nella norma o inferiori, purtroppo sono presenti e c'è da ritenere che nel tempo potrebbero aumentare e l'inquinamento arricchirsi di nuove sostanze dannose per l'uomo e l'ambiente. Questo lavoro ne ha prese in considerazione solo alcune, che dovranno nel tempo comunque essere monitorate, semplificando, dove possibile, le indagini e indirizzandole verso quegli analiti che possono fare da traccianti del grado di inquinamento.

Altro aspetto, invece, è l'impegno che i laboratori dovranno approfondire per determinare sostanze vecchie e nuove che rivestono problemi di tossicità. Purtroppo tali sostanze, presenti a volte in piccolissime quantità (pg/g) comportano in futuro che, oltre allo sviluppo tecnico dei laboratori (dotazione strumentale e formazione del personale), avvenga una selezione mirata sulle priorità delle richieste adeguando i protocolli, a volte fin troppo ricchi e ridondanti di analisi superflue, alle oggettive complessità analitiche e conseguenti onerosi costi di produzione.

In tale contesto citiamo i microinquinanti organici "emergenti" ("Emerging Pollutants of Concern"-EPOCs") ovvero quei composti, molti dei quali non regolati da normativa, che possono risultare a lungo termine dannosi per la salute dell'uomo (Tabella 6-1) e dell'ambiente. Fra questi, si possono annoverare:

- farmaci e farmaci ad uso veterinario, prescritti e non prescritti: Pharmaceutical Active Compounds-PhACs;

- droghe d'abuso;
- prodotti industriali, per la cura della casa (detergenti non ionici) e per l'igiene personale (profumi, deodoranti, fragranze, lozioni, cosmetici, eccipienti, dentifrici, creme abbronzanti, creme antiacne, ecc.), e nutraceutici (alimenti ricchi di sostanze nutritive usati come supplementi bioattivi al cibo): Pharmaceuticals and Personal Care Products (PPCPs);
- ormoni steroidei, tiroidei, fitoestrogeni e altri distruttori endocrini, quali gli Alchilfenoli (ottil e nonil fenoli), gli Ftalati e gli idrossi-IPA: Endocrine Disruptors-EDs;
- altri composti organici persistenti, con potenzialità endocrino-distruttiva (policloro bifenili, pesticidi, idrocarburi policiclici aromatici, ritardanti di fiamma contenenti atomi di bromo policromo difenil eteri PBDE, composti organo stannici, diossine e furani PCDD/DF, ecc.): Persistent Organic Pollutants-POPs.

La preoccupazione degli studiosi risiede nel fatto che non sempre gli impianti di

trattamento tradizionali sono in grado di rimuovere completamente (in quanto non originariamente progettati con tale finalità) questi microinquinanti, che si ritrovano, quindi, nei corpi idrici recettori potenzialmente attivi, anche se a concentrazioni estremamente basse.

Molti studi hanno infatti accertato come alcune classi di composti sintetici e naturali, presenti nell'ambiente acquatico, siano in grado di interferire, attraverso meccanismi di competizione o di antagonismo, con il normale funzionamento del sistema endocrino (da qui il nome di "distruttori endocrini") e riproduttivo (comprendenti ipotalamo, ipofisi, tiroide, paratiroidi, surrene, pancreas, ovaie e testicoli) di molte specie animali e possano, quindi, rappresentare un pericolo potenziale anche per l'uomo. In particolare, gli EDs interferiscono con la funzionalità del sistema endocrino in almeno tre diversi modi: attraverso interazioni recettoriali (agonismo od antagonismo), inibizione della sintesi e/o del trasporto degli ormoni.

COMPOSTI	EFFETTI
PCB	antiestrogenici
Diossine	antiestrogenici
Furani	antiestrogenici
Polibromati	effetti sulla tiroide
Alchilfenoli	estrogenici
Organostannici	antiestrogenici
Pesticidi clorurati	estrogenici, antiestrogenici, antiandrogenici
Bis-Fenoli	estrogenici
Ormoni steroidei	estrogenici
Ftalati	estrogenici

Tabella 6-1 Classe di composti ed effetti osservati.

Bibliografia

- Ahlborg U.G. and Hanberg A. (1994). Toxic equivalency factors for dioxin-like PCBs. Report on a WHO-ECEH and IPCS consultation, December 1993. *Chemosphere*, 28: 1049-1067.
- Amico V., Impellizzeri G., Oriente G., Piattelli M., Sciuto M., Trincali C. (1979). Levels of chlorinated hydrocarbons in marine animals from the central Mediterranean. *Mar. Poll. Bull.*, 10: 151-154.
- Apostoli P. Inquadramento tossicologico dei policloro bifenili. 10° Convegno di igiene industriale, Corvara (Bolzano), 31 marzo - 2 aprile 2004.
- Baek S.O., Field R.A., Goldstone M.E., Kirk P.W., Lester J.N., Perry R. (1991). Hydrocarbons: sources, fate and behaviour. *Water, Air and Soil pollution*, 60: 279-300.
- Baumard P., Budzinski H., Garrigues P. (1998). Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in sediments and mussel of the Western Mediterranean Sea. *Environ. Toxicol. Chem.*, 17(5): 765-776.
- Bayarri S., Baldassarri L.T., Iacovella N., Ferrara T., di Domenico A. (2001). PCDDs, PCDFs, PCBs and DDE in edible marine species from the Adriatic Sea. *Chemosphere*, 43: 601-610.
- Bendell-Young L.I., Harvey H.H., Young J.F. (1986). Accumulation of cadmium by white suckers (*Catostomus commersoni*) in relation to fish growth and lake acidification. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 43: 806-811.
- Bergamasco A., Oguz T., Malanotte-Rizzoli P. (1999). Modeling dense water mass formation and winter circulation in the Northern and central Adriatic Sea. *J. Marine Systems*, 20: 279-300.
- Bocca B., Crebelli R., Manichini E. (2003). Presenza degli Idrocarburi policiclici aromatici negli alimenti. *Rapporti ISTISAN* 03/22.
- Boon J.P., Oostingh I., Van der Meer J., Hilbrand M.T. (1994). A model for the bioaccumulation of chlorobiphenyl congeners in marine mammals. *Eur. J. Pharmacol.*, 270(2-3): 237-251.
- Boudou A., Ribeyre F. (1985). Experimental study of trophic contamination of *Salmo gairdneri* by two mercury compounds (HgCl and CH₃HgCl) analysis at the organism and 2-3 organ level. *Water Air Soil Pollut.*, 26: 137-148.
- Bray J.R., Curtis J.T. (1957). An ordination of the upland forest communities of Southern Wisconsin. *Ecol. Monogr.*, 27: 325-349.
- Bustamante P., Bocher P., Cherel Y., Miramand P., Caurant F. (2003). Distribution of trace elements in the tissues of benthic and pelagic fish from the Kerguelen Islands. *Sci. Total Environ.*, 313: 25-39.
- Camusso M. e Borsani G. (2004). Indagine conoscitiva sui livelli di mercurio nei comparti ambientali del lago Maggiore. CIP AIS: 71.
- Caricchia A.M., Chiavarini S., Creminini C., Martini F. Morabito R. (1993). PAHs, PCBs. and DDE in the Northern Adriatic Sea. *Mar. Poll. Bull.*, 26 (10): 581-583.
- Cavalieri E.L. and Rogan E.G. (1992). The approach to understanding aromatic hydrocarbon carcinogenesis. The central role of radical cations in metabolic activation. *Pharmacol. Ther.*, 55: 183-194.
- Cavalieri E.L. and Rogan E.G. (1995). Central role of radical cations in metabolic activation of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Xenobiotica*, 25: 677-688.
- Clark K.E., Gobas F.A.P.C., Mackay D. (1990). Model of organic chemical uptake by fish from food and water. *Environ. Sci. Technol.*, 24 (8).
- Clarke K.R. (1993). Non-parametric multivariate analyses of changes in community

- structure. *Australian Journal of Ecology*, 18: 117-143
- Clemons J.H., Allan L.M., Marvin C.H., Wu Z., McCarry B.E., Bryant D.W., Zacharewski T.R. (1998). Evidence of Estrogen and TCDD-like Activities in Crude and Fractionated Extracts of PM10 Air Particulate Material Using in Vitro Gene Expression Assays. *Environ. Sci. Technol.*, 32 (12): 1853–1860.
- Coppi S., Benedetti S., Rinaldi A., Ferrari C.R. (1996). Risultato di un monitoraggio di pesticidi, policlorobifenili, e idrocarburi policiclici aromatici su pesce e molluschi del mare Adriatico. *Bool. Chim. Igien.*, 47: 275-278.
- Corsolini S., Focardi S., Sequi R. (1996). Policlorobifenili e DDTs in tonni (*Thunnus thynnus thynnus*) catturati presso l'isola di Favignana: considerazioni tossicologiche. *Biol. Mar. Medit.*, 3: 317-323.
- Cubadda F., Stacchini P., Baldini M. (1998). Microinquinanti organici e inorganici in specie marine eduli del Mare Adriatico: livelli di presenza e stima dell'assunzione potenziale da parte dell'uomo. *ISTISAN* 98/11.
- Culp S.J., Gaylor D.W., Sheldon W.G., Goldstein L.S., Beland F.A. (1998). A comparison of the tumours induced by coal tar and benzo[a]pyrene in a 2-year bioassay. *Carcinogenesis*, 19: 117-124.
- Cunningham P.A., Tripp M.R. (1975). Accumulation, tissue distribution and elimination of $^{203}\text{HgCl}_2$ and $\text{CH}_3\text{ }^{203}\text{HgCl}$ in the tissues of American oyster, *Crassostrea virginica*. *Mar. Biol.*; 31: 321-334.
- Dipple A., Moschel R.C., Bigger C.A.H. (1984). Polynuclear aromatic carcinogens. In: *Chemical Carcinogens*, ACS Monograph, vol. 182. (Searle, C.E., ed.). American Chemical Society Press, Washington DC: 41-163.
- Dipple A., Pigott P.A., Agarwal S.K., Yagi H., Sayer J.M., Jerina D.M. (1987). Optically active benzo[c]phenanthrene diol-epoxides bind extensively to adenine in DNA. *Nature* 327: 535-536.
- D.M. 14/12/1971; G.U. n.328 del 28/12/1971
- D.M. 31/07/1995; G.U. n.279 del 29/11/1995
- De Martin S., Matcovich P. (1998). Determinazione di Idrocarburi Policiclici Aromatici (IPA) in acque, molluschi e gasteropodi. *Boll. Chim. Igien.*: 49: 19.
- Di Domenico A., Baldassarri L.T., Ziemacki G., De Felip E., Ferri F., Iacovella N., La Rocca C., Ridriguez F., Volpi F., D'Agostino O., Sansono R. (1997). Selected carcinogenic organic microcontaminants and heavy metals in the Venice Lagoon. Contamination levels of biota samples. 17th International Symposium on Chlorinated Dioxins and Related Compounds. Indianapolis, Indiana, USA, August 25-29.1997. *Organohalogen Compounds*, 34.
- EFSA (European Food Safety Authority), Question N° EFSA-Q-2007-136 "Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Food. Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain" Adopted on 9 June 2008. *Journal* (2008) 724: 1-114.
- EFSA (European Food Safety Authority), Question N° EFSA-Q-2003-114 "Opinion of the scientific panel on contaminants in the food chain on a request from the commission related to the presence of non dioxin-like polychlorinated biphenyls (PCB) in feed and food". Adopted on 8 November 2005 *The EFSA Journal* (2005) 284: 1 – 137.
- EFSA, Colloquium on Dioxins, Furans and Dioxin-like PCBs, Brussels Belgium 28, 29 June 105,(2004).

- Eljarrat E., Barcelo D. (2003). Priority lists for persistent organic pollutants and emerging contaminants based on their relative toxic potency in environmental samples. *Trends in Analytical Chemistry*, 22 (10): 655-665.
- Eutrofizzazione delle acque costiere dell'Emilia Romagna. Rapporti annuali 1987-2009. Struttura Oceanografica Daphne. ARPA Emilia Romagna.
- Fabbri D., Locatelli C., Trombini C., Vassura I. (2003). Contaminazione chimica dei sedimenti. In: CIRSA Università di Bologna, Comune di Ravenna (eds) *La Pialassa della Baiona. Qualità dell'ambiente e attività di ricerca*. Editrice La Mandragora, Imola (BO): 167-186.
- Fabbri D., Vassura I. (2003). Analisi delle fonti degli idrocarburi policiclici aromatici nei sedimenti. In: CIRSA Università di Bologna, Comune di Ravenna (eds) *La Pialassa della Baiona. Qualità dell'ambiente e attività di ricerca*. Editrice La Mandragora, Imola (BO): 187-198.
- Ferrara F., Funari E. (2004). Rischio chimico associato alla qualità delle acque del mare Adriatico. Rapporto finale delle attività finanziate dal Progetto MURST/CNR "Prisma 2". Rapporti ISTISAN 04/4.
- Fiedler H. (1999). *Compilation of EU Dioxin Exposure and Health Data Task 2—Environmental Levels*. Technical Annex, Report for EC DG Environment, UK DETR; October 1999.
- Fowler S.W., Heyraud M., La Rosa J. (1978). Factors affecting methyl and inorganic mercury dynamics in mussels and shrimp. *Mar. Biol.*, 46: 267-276.
- Gatto M., Casagrandi R. (2003). *Dispense del corso di ecologia - Politecnico Milano*. Gazzetta Ufficiale della Repubblica Italiana. Serie generale n°225 del 27/09/2001. Ordinanza del 18 settembre 2001. Tenori massimi tollerabili di idrocarburi policiclici aromatici nell'olio di sansa di oliva e nell'olio di sansa di oliva raffinato.
- Gelboin H.V. (1980). Benzo[alpha]pyrene metabolism, activation and carcinogenesis: role and regulation of mixed-function oxidases and related enzymes. *Physiol. Rev.*, 60: 1107-1166.
- Geyer H., Freitag D., Korte F. (1984). Polychlorinated biphenyls (PCBs) in the marine environment, particularly in the Mediterranean. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 8: 129-151.
- Ghidini S., Delbono G., Campanini G. (2000). Levels and evolution of cadmium, mercury and arsenic in fish of Northern Adriatic Sea. Università di Parma. Facoltà di Medicina Veterinaria. Istituto di Scienza e tecnologia degli alimenti. *Annali 2000*.
- Ghirardelli E. (1991). *La vita nelle acque UTET*.
- Giblin F.J., Massaro E.J. (1973). Pharmacodynamics of methyl mercury in the rainbow trout (*Salmo gairneri*) tissue uptake, distribution and excretion. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 24: 81-91.
- Gilmour C.C., Henry E.A., Mitchell R. (1992). Sulfate stimulation of mercury methylation in freshwater sediments. *Environ. Sci. Technol.*, 26: 2281-2287.
- Gray J.S. (2002). Biomagnification in marine systems: the perspective of an ecologist. *Mar. Poll. Bull.*, 45: 46-52.
- Green N., Bjerkgang B., Hylland K., Ruus A., Rygg B., Kunitzer A. (2003). Hazardous substances in the European marine environment: trends in metals and persistent organic pollutants. European Environment Agency. Report 2/2003.
- Hall M., Grover P.L. (1990). Polycyclic aromatic hydrocarbons: metabolism, activation and tumor initiation. In: *Chemical Carcinogenesis and Mutagenesis Vol.*

- I. (Cooper, C.S. and Grover, P.L., ed.). Springer-Verlag, Heidelberg: 327-372.
- Harvey R.G. (1991). Polycyclic aromatic hydrocarbons, Chemistry and Carcinogenicity. Cambridge University Press, Cambridge, UK: 11-87.
- Hecht S.S., Radok L., Amin S., Huie K., Melikian A.A., Hoffmann D., Pataki J. and Harvey R.G. (1985). Tumorigenicity of 5-methylchrysene dihydrodiols and dihydrodiol epoxides in newborn mice and on mouse skin. *Cancer Res.*, 45: 1449-1452.
- Hodson P.V., Blunt B.R., Spry D.J. (1978). Chronic toxicity of water-borne and dietary lead to rainbow trout (*Salmo gairdneri*) in Lake Ontario water. *Water Res.* 12: 869-878.
- Impellizzeri G., Tringali C., Chillemi R., Piattelli M. (1982). Observations on the levels of DDTs and PCBs in the central Mediterranean. *Sci. Total Environ.*, 25: 169 – 179.
- IPCS (1998). Selected Non-heterocyclic Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. Environmental Health Criteria 202. Geneva: International Programme on Chemical Safety - World Health Organization.
- Isaacs J.D.(1973). Potential trophic biomasses and trace-substance concentrations in unstructured marine food webs. *Mar. Biol.*, 22: 97-104.
- Kannan K., Corsolini S., Imagawa T., Focardi S., Giesy J.P. (2002). Polychlorinated-Naphthalenes, -Biphenyls, -Dibenzo-p-dioxins, -Dibenzofurans and p,p'-DDE in Blefin Tuna, Swordfish, Cormorants and Barn Swallows from Italy. *Ambio* Vol. 31 No. 3, May 2002.
- Klimm C., Hofmaier A.M., Schramm K.W., Kettrup A. (1999). Using TEF Concept for Assessing Toxic Potency of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Industrial Samples. *Organohalogen Compounds* 40: 39-42.
- Koistinen J., Stenman O., Haahti H., Suonpera M., Paasivirta J.(1997). Polychlorinated diphenyl ethers, dibenzo-p-dioxins, dibenzofurans and biphenil in seals and sediment from the gulf of finland. *Chemosphere*, 35 (6): 1249-1269.
- Kraal M.H., Kraak M.H.S., De Groot C.J., Davids C. (1995). Uptake and Tissue Distribution of Dietary and Aqueous Cadmium by Carp (*Cyprinus carpio*). *Ecotoxicology and environmental. Saf.*, 31: 179-183.
- La Rocca C., Iacovella N., Baldassarri T.L. (2002). Circuito di intercalibrazione nazionale per il rilevamento di PCB e PCDD/PCDF in matrici alimentari. *ISTISAN* 02/38.
- Lalli C.M., Parsons T.R. (1993). Biological oceanography: an introduction. Butterworth Heinemann.
- Lange T.R., Royals H.E., Connor I.L. (1994). Mercury accumulation in largemouth bass (*Micropterus salmoides*) in a Florida lake. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 27: 466-471.
- Leblanc G.A. (1995). Trophic-level differences in the bioconcentration of chemicals: implications in assessing environmental biomagnification. *Environ. Sci. Technol.*, 29 (1): 154-160.
- Levin W., Thakker D.R., Wood A.W., Chang R.L., Lehr R.E., Jerina D.M., Conney A.H. (1978). Evidence that benzo(a)anthracene 3,4-diol-1,2-epoxide is an ultimate carcinogen on mouse skin. *Cancer Res.*, 38: 1705-1710.
- Lindqvist O., Johnasson K., Aastrup M. (1991). Mercury in the Swedish environment - recent research on causes, consequences and corrective methods. *Water Air Soil Pollut.*, 55: 1-251.

- Lotti M. (2004) Il significato tossicologico della misura dei PCB nel sangue: una rassegna critica. 10° Convegno di igiene industriale, Corvara (Bolzano), 31 marzo- 2 aprile 2004.
- Mackay D., Fraser A. (2000). Bioaccumulation of persistent organic chemicals: mechanisms and models. *Environmental Pollution*, 110: 375-391.
- Manahan S.E. (2000). *Chimica dell'ambiente*. Ed. Piccin, 197-246.
- Manuale operativo Gascromatografo 6890 Hewlett-Packard, vol. 1-3.
- Manuale su Cd-rom Spettrometro di massa 5973 Hewlett-Packard.
- Manuale UNICHIM 122 1989-Misura alle emissioni parte III.
- Mason R.P., Reinfelder J.R., Morel F.M.M. (1996). The uptake, toxicity and trophic transfer of inorganic mercury and methylmercury in a marine diatom. *Environ. Sci. Technol.*, 30: 1835-1845.
- Mastral A.M., Callén M.S. (2000). A review on Polycyclic Aromatic Hydrocarbon (PHA) Emissions from Energy Generation. *Environ. Sci. and Tecnol.*, 34:3051-3057.
- Menechini E. (1994) Polycyclic aromatic hydrocarbon: identity, physical and chemical properties, analytical methods. *ISTISAN 94/5*
- Menichini E., Rossi L. (1991). *Idrocarburi Policiclici Aromatici: basi scientifiche per la proposta di linee guida*. *ISTISAN 91/27*.
- Metcalf T.L., Metcalfe C.D. (1997). The trophodynamics of PCBs, including mono- and non-orto congeners, in the food web of North-Central Lake Ontario. *Sci. Total Environ.*, 201: 245-272.
- Mihue T.B., Minshall G.W. (1995). Trophic generalists vs. Triphic specialists: implications for food web dynamics in post-fire streams. *Ecology*, 76: 2361-2372.
- Miller E.C., Miller J.A. (1966). Mechanism of chemical carcinogenesis: nature of proximate carcinogens and interactions with macromolecules. *Pharmacol. Rev.*, 18: 805-838.
- Miller E.C. (1978). Some current perspectives on chemical carcinogenesis in humans and experimental animals: presidential address. *Cancer Res.*, 38: 1479-1486.
- Ministero dell'Ambiente. Servizio difesa mare. *Qualità degli ambienti marini costieri italiani 1996-1999*.
- Montanari G. e Pinardi N. *I quaderni di Arpa; 2006. Le correnti costiere in Emilia Romagna nel periodo 1995-2002*.
- Muir D.C.G., Ford C.A., Rosemberg B., Norstrom R.J., Simon M., Béland P. (1996). Persistent organochlorines in Beluga Whales (*Delphinapterus Leucas*) from the St Lawrence river estuary. I. Concentration and patterns of specific PCBs, Chlorinated pesticides and polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans. *Environmental Pollution*, 93 (2): 219-234.
- Nawata T., Sibaoka T. (1983). Experimental induction of feeding behavior in *Noctiluca miliaris*. *Protoplasma*, 115: 34-42
- Nordquist M., Thakker D.R., Vyas K.P., Yagi H., Levin M., Ryan D.E., Thomas D.E., Conney A.H. and Jerina D.M. (1981). Metabolism of chrysene and phenanthrene to bay region diol-epoxide by rat liver enzymes. *Mol. Pharmacol.*, 19: 168-178.
- Oliveira-Ribeiro C.A., Rouleau C., Pelletier E., Audit C., Tjalve H. (1999). Distribution kinetics of dietary methylmercury in the arctic char (*Salvelinus alpinus*). *Environ. Sci. Technol.*, 33: 902-907.
- Olson K.R., Squibb K.S., Cousins R.J. (1978). Tissue uptake, subcellular distribution, and metabolism of ^{14}C -CH₃HgCl and ^{203}Hg -CH₃HgCl by rainbow trout *Salmo*

- gairdneri. *J. Fish. Res. Board. Can.*, 35: 381-390.
- OSPAR (1996). *Ecotoxicological Assessment Criteria. Report of the 3rd workshop, The Hague 25-26 November 1996.*
- OSPAR (1999). *Report on assesment of trends in the concentrations of certain metals, PAHs and other organic compounds in the tissues of various fish species and blue mussels: OSPAR Ad Hoc Working Group on Monitoring 1998.*
- OSPAR (2000). *Quality Status Report 2000.*
- Penning T.M., Burczynski M.E., Hung C.F., McCoull K.D., Palackal N.T., Tsuruda L.S. (1999). Dihydrodiol dehydrogenase and polycyclic aromatic hydrocarbon activation: generation of reactive and redox active o-quinones. *Chem. Res. Toxicol.*, 12(1): 1-18
- Penning T.M., Ohnishi S.T., Ohnishi T. and Harvey R.G. (1996). Generation of reactive oxygen species during the enzymatic oxidation of polycyclic aromatic hydrocarbon dihydrodiols catalyzed by dihydrodiol dehydrogenase. *Chem. Res. Toxicol.*, 9: 84-92.
- Perkin Elmer HGA-76 B graphite furnace operator's manual.
- Perkin Elmer mod. 2280 atomic absorption spectrophotometer operator's manual.
- Perkin Elmer Zeeman/3030 atomic absorption spetrometer operator's manual.
- Phillips G.R., Buhler D.R. (1978). The relative contributions of methylmercury from food or water to rainbow trout (*Salmo gairdneri*) in a controlled laboratory environment. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 107: 853-861.
- Phillips G.R., Lenhaart T.E., Gregory R.W. (1980). Relation between trophic position and mercury accumulation among fishes from Tongue River Reservoir, Montana *Environ. Res.*, 22: 73-80.
- Pizzin G., Bentley S. (2006). Diossine, Furani PCB e alimenti di origine animale stato dell'arte. *Ann. Fac. Medic. Vet. di Parma (Vol. XXVI, 2006): 247-264.*
- Potter L., Kidd D., Standiford D. (1975). Bio-amplification of mercury in man-made desert reservoir. *Environ. Sci. Technol.*, 9: 41-46.
- Raccanelli S. (2004). L'esigenza del monitoraggio di diossine e POPs nell'ambiente per la salvaguardia della salute. 10° Convegno di igiene industriale, Corvara (Bolzano), 31 marzo- 2 aprile 2004.
- Raicich F. (1996). On the fresh water balance of the Adriatic Sea. *Journal of Marine Systems* 9: 305-319.
- Ralston S.L., Lau H.H., Seidel A., Luch A., Baird W.M. (1995). Stereoselective activation of dibenzo[a,l]pyrene to (-)-anti(11R,12S,13S,14R)- and (+)-syn(11S,12R,13S,14R)-11,12diol-13,14-epoxides which bind extensively to deoxyadenosine residues of DNA in the human mammary carcinoma cell line MCF-7. *Carcinogenesis*, 16: 1907-1919.
- Ralston S.L., Lau H.H., Seidel A., Luch A., Platt K.L. and Baird W.M. (1994). The potent carcinogen dibenzo[a,l]pyrene is metabolically activated to fjord-region 11,12-diol-13,14-epoxides in human mammary carcinoma MCF-7 cell cultures. *Cancer Res.*, 54: 887-890.
- Randall P.S., Kelly C.A., Rudd J.W.M., Furu-tani A. (1993) Sites of methyl mercury production in remote Canadian shield lakes. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 50: 972-979.
- Readman J.W., Mantoura R.F.C., Rhead M.M. (1984). The physico-chemical speciation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in aquatic systems. *Fresenius Z Anal. Chem.*, 319: 126-131.

- Reinfelder J.R., Fisher N.S. (1991). The assimilation of elements ingested by marine copepods. *Science*, 251: 794-796.
- Reinfelder J.R., Fisher N.S., Luoma S.N., Nichols J.W., Wang W.X. (1998). Trace element trophic transfer in aquatic organisms: A critique of the Kinetic model approach. *Sci. Total. Environ.*, 219: 117-135.
- Riedl R. (1991). *Flora e fauna del Mediterraneo*. Franco Muzzio Editore.
- Riisgaard H.U., Kiørboe T., Møhlenberg F., Drabæk I, Madsen P.P. (1985). Accumulation, elimination and chemical speciation of mercury in the bivalves *Mytilus edulis* and *Macoma balthica*. *Mar Biol.*, 86: 55-62.
- Riisgard H.U., Hansen S. (1990). Biomagnification of mercury in a marine grazing food-chain: algal cells *Phaeodactylum tricorutum*, mussels *Mytilus edulis* and flounders *Platichthys flesus* studied by means of a stepwise-reduction-CVAA method. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 62: 259-270.
- Rinaldi A., Montanari G., Ferrari C.R., Ghetti A., Vollenweider R.A. (1995). Evoluzione dello stato trofico nelle acque costiere emiliano-romagnole nel periodo 1982-1994. *Atti del convegno 28-29 settembre 1995 Marina di Ravenna*.
- Saouter E., Hare L., Campbell P.G.C., Boudou A., Ribeyre F. (1993). Mercury accumulation in the burrowing mayfly *Hexagenia rigida* Ephemeroptera exposed to CH_3HgCl of HgCl_2 water and sediment. *Water Res.*, 27: 1041-1048.
- Sapunar J., Jusic M., Bazulic D. (1989). Total mercury and cadmium in some cephalopods and fish from the Adriatic sea. *Mar. Pollut. Bull.*, 20: 576-577.
- Simpson D.C., Cullen W.R., Quinlan K.B., Reimer K.J. (1995). Methodology for determination of priority pollutant polycyclic aromatic hydrocarbons in marine sediments. *Chemosphere*, 31 (9): 4143-4155.
- Slaga T.J., Gleason G.L., Di Giovanni J., Sukumaran K.B., Harvey R.G. (1979). Potent tumor initiating activity of the 3,4-dihydrodiol-7,12-dimethylbenz[a]anthracene in mouse skin. *Cancer Res.*, 39: 1934-1936.
- Sorenson J.A., Glass G.E., Schmidt K.W., Huber J.K., Rapp G.R. Jr. (1990). Air-born mercury deposition and watershed characteristics in relation to mercury concentrations in water, sediments, plankton, and fish of eighty northern Minnesota lakes. *Environ. Sci. Technol.*, 24: 1716-1727.
- Tortonese E. (1970). *Fauna d'Italia. Osteichthyes, Pesci ossei*. Vol. X Edizioni Calderini Bologna.
- Tortonese E. (1975). *Fauna d'Italia. Osteichthyes, Pesci ossei*. Vol. XI Edizioni Calderini Bologna.
- Totti C., Civitarese G., Barletta D., Candelari G., Paschini E., Solazzi A. (2000). Seasonal variability of phytoplankton populations in the middle Adriatic sub-basin. *J. Plankton Res.*, 22: 1735-1756.
- Trudel M., Rasmussen J.B. (1997). Modeling the elimination of mercury by fish. *Environ. Sci. Technol.*, 31: 1716-1722.
- Underwood A. J. (1997). *Experiments in Ecology. Their logical design and interpretation using analysis of variance*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Van den Berg M., Birnbaum L., Bosveld A.T., Brunström B., Cook P., Feeley M., Giesy J.P., Hanberg A., Hasegawa R., Kennedy S.W., Kubiak T., Larsen J.C., Van Leeuwen F.X., Liem A.K., Nolt C., Peterson R.E., Poellinger L., Safe S., Schrenk D., Tillitt D., Tysklind M., Younes M., Waern F., Zaczarewski T. (1998). Toxic equivalency factors (TEFs) for PCBs, PCDDs, PCDFs

- for humans and wildlife. *Environ. Health Perspect.*, 106: 775-792.
- Van den Berg M., Birnbaum L.S., Denison M., De Vito M., Farland W., Feeley M., Fiedler H., Hakansson H., Hanberg A., Haws L., Rose M., Safe S., Schrenk D., Tohyama C., Tritscher A., Tuomisto J., Tysk-lind M., Walker N., Peterson R.E. (2006). The 2005 World Health Organization re-evaluation of human and mammalian toxic equivalency factors for dioxins and dioxin-like compounds. *Toxicol. Sci.*, 93: 223-41.
- Watras C.J., Bloom N.S. (1992). Mercury and methylmercury in individual zooplankton: implications for bioaccumulation. *Limnol. Oceanogr.*, 37: 1313-1318.
- Wiener J.G., Giesy J.P.Jr. (1979). Concentrations of Cd, Cu, Mn, Pb, and Zn in fishes in a highly organic softwater pond. *J. Fish. Res. Bd. Can.*, 36: 270-279.
- Willett K.L., Gardinali P.R., Sericano J.L., Wade T.L., Safe S.H. (1997). Characterization of the H4IIE Rat Hepatoma Cell Bioassay for Evaluation of Environmental Samples Containing Polynuclear Aromatic Hydrocarbons (PAHs). *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 32-442.
- Wise S.A., Benner B.A. Jr, Christensen R.G., Koster B.J., Kurz J., Schantz M.M., Zeisler R. (1991). Preparation and analysis of a frozen mussel tissue reference material for the determination of trace organic constituents. *Environ. Sci. Technol.*, 25: 1695-1704.
- www.sibm.it
- www.zoologie.sbg.ac.at/Patzner/Gobiidae/LiteraturGobius.htm.
- Xue W., Warschawsky D. (2005). Metabolic activation of polycyclic and heterocyclic aromatic hydrocarbons and DNA damage: A review. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 206: 73-93.
- Young D.R., Mearns A.J., Jan T.-K., Heesen T.C., Moore M.D., Eganhouse R.P., Hershelman G.P., Gossett R.W. (1980). Trophic Structure and pollutant concentrations in marine ecosystems of Southern California. *Calif. Coop. Oceanic Fish. Invest. Rep.*, 21: 197-206.
- Zoppini A., Pettine M., Totti C., Puddu A., Artegiani A., Pagnotta R. (1995). Nutrients, standing crop and primary production in western coastal waters of the Adriatic Sea. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 41:495-513.
- Zunini Sertorio T. (1990). Campionamento dello zooplancton. *Nova Thalassia*, 11: 265-284.

Appendici

I. Microinquinanti inorganici

Dati peso fresco					
Specie	Tessuto	Tempo	Cadmio mg/Kg	Piombo mg/Kg	Mercurio mg/Kg
Fitoplancton	campione medio	1	0,004	0,515	0,030
		2	0,004	0,100	0,030
Zooplancton	campione medio	1	0,027	2,835	0,030
		2	0,020	0,323	0,030
<i>Engraulis encrasicolus</i>	Branchie	1	0,017	1,076	0,060
		2	0,011	1,854	0,050
	Gonadi	1	0,046	0,232	0,179
		2	0,006	0,100	0,045
	Muscolo	1	0,004	0,100	0,043
		2	0,004	0,100	0,043
	Organi interni	1	0,054	0,643	0,107
		2	0,089	0,512	0,118
Scheletro	1	0,011	0,349	0,057	
	2	0,019	0,443	0,065	
<i>Sardina pilchardus</i>	Branchie	1	0,042	2,302	0,056
		2	0,004	1,003	0,039
	Gonadi	1	0,041	1,018	0,058
		2	0,004	0,100	0,030
	Muscolo	1	0,005	0,110	0,058
		2	0,004	0,100	0,046
	Organi Interni	1	0,064	1,248	0,068
		2	0,025	0,456	0,065
Scheletro	1	0,015	0,516	0,044	
	2	0,006	0,397	0,048	
<i>Scomber scombrus</i>	Branchie	1	0,010	0,366	0,069
		2	0,004	0,757	0,054
	Cibo	1	0,007	0,314	0,050
		2	0,018	0,282	0,107
	Gonadi	1	0,006	0,100	0,051
		2	0,004	0,100	0,119
	Muscolo	1	0,005	0,100	0,126
		2	0,005	0,100	0,126
Organi Interni	1	0,014	0,498	0,080	
	2	0,032	0,207	0,093	
Scheletro	1	0,004	0,100	0,061	
	2	0,004	0,100	0,078	
<i>Euthynnus alletteratus</i>	Muscolo	1	0,004	0,100	6,236
<i>Chamelea gallina</i>	Parti molli	1	0,014	0,100	0,030
		2	0,017	0,100	0,030
<i>Mytilus galloprovincialis</i>	Parti molli	1	0,170	0,337	0,030
		2	0,169	0,340	0,030
<i>Gobius paganellus</i>	Branchie	1	0,004	0,419	0,069
		2	0,004	0,340	0,035
	Gonadi	1	0,004	0,100	0,038
		2	0,004	0,118	0,049
	Muscolo	1	0,004	0,100	0,056
		2	0,004	0,100	0,030
	Organi Interni	1	0,004	0,933	0,075
		2	0,012	1,407	0,048
Scheletro	1	0,004	0,110	0,045	
	2	0,004	0,214	0,030	

Appendice I Concentrazioni medie di cadmio, piombo e mercurio relative al peso fresco.

Dati peso secco					
Specie	Tessuto	Tempo	Cadmio mg/Kg p.s.	Piombo mg/Kg p.s.	Mercurio mg/Kg p.s.
Fitoplancton	campione medio	1	0,138	15,807	0,030
		2	0,028	1,619	0,030
Zooplancton	campione medio	1	0,316	34,179	0,048
		2	0,226	3,648	0,035
<i>Engraulis encrasicolus</i>	Branchie	1	0,059	3,627	0,216
		2	0,037	5,220	0,163
	Gonadi	1	0,125	0,649	0,472
		2	0,026	0,190	0,187
	Muscolo	1	0,014	0,417	0,179
		2	0,210	2,619	0,465
	Organi interni	1	0,263	1,543	0,334
		2	0,034	1,099	0,180
Scheletro	1	0,050	1,151	0,161	
	2				
<i>Sardina pilchardus</i>	Branchie	1	0,136	8,362	0,194
		2	0,006	3,362	0,137
	Gonadi	1	0,144	3,293	0,206
		2	0,006	0,351	0,104
	Muscolo	1	0,024	0,489	0,260
		2	0,004	0,184	0,169
	Organi Interni	1	0,331	5,575	0,356
		2	0,073	1,280	0,191
Scheletro	1	0,063	2,048	0,183	
	2	0,017	1,089	0,134	
<i>Scomber scombrus</i>	Branchie	1	0,036	1,348	0,254
		2	0,006	2,197	0,158
	Cibo	1	0,030	1,192	0,216
		2	0,073	1,498	0,442
	Gonadi	1	0,025	0,180	0,224
		2	0,009	0,120	0,463
	Muscolo	1	0,017	0,200	0,401
		2	0,056	1,983	0,309
Organi Interni	1	0,119	0,771	0,342	
	2	0,007	0,220	0,175	
Scheletro	1	0,004	0,224	0,186	
	2				
<i>Euthynnus alletteratus</i>	Muscolo	1	0,004	0,174	20,203
<i>Chamelea gallina</i>	Parti molli	1	0,096	0,436	0,117
		2	0,106	0,479	0,061
<i>Mytilus galloprovincialis</i>	Parti molli	1	1,764	3,367	0,054
		2	1,209	2,444	0,071
<i>Gobius paganellus</i>	Branchie	1	0,004	1,439	0,249
		2	0,007	1,314	0,137
	Gonadi	1	0,004	0,287	0,147
		2	0,010	0,253	0,119
	Muscolo	1	0,004	0,220	0,273
		2	0,005	0,220	0,128
	Organi Interni	1	0,021	5,447	0,350
		2	0,040	4,748	0,179
Scheletro	1	0,011	0,373	0,156	
	2	0,005	0,524	0,062	

Appendice 2 Concentrazioni medie di cadmio, piombo e mercurio relative al peso secco.

2. Microinquinanti organici

tempo I Peso Fresco Congenere	Fitoplancton pg/g	Zooplancton pg/g	Gobius paganellus pg/g	Chamaelea galina pg/g	Mytilus galloprovincialis pg/g	Engraulis encrasicolus pg/g	Sardina pilchardus pg/g	Scomber scombrus pg/g	Euthynnus alletteratus pg/g
PCDD									
2,3,7,8T4CDD	0,03	<0,005	0,02	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	0,15
1,2,3,7,8 P5CDD	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	0,06	<0,005	<0,005	0,21
1,2,3,4,7,8 H6CDD	<0,01	<0,01	<0,01	0,09	0,23	<0,01	<0,01	0,23	<0,01
1,2,3,6,7,8 H6CDD	0,15	0,16	<0,01	0,11	0,10	0,15	<0,01	0,17	0,40
1,2,3,7,8,9 H6CDD	0,04	<0,01	<0,01	0,05	<0,01	0,08	<0,01	<0,01	<0,01
1,2,3,4,6,7,8 H7CDD	0,11	<0,01	0,06	<0,01	0,04	0,24	<0,01	<0,01	0,08
OCDD	1,35	0,67	0,67	0,35	0,86	1,79	0,19	0,64	0,25
PCDF									
2,3,7,8T4CDF	<0,005	0,06	<0,005	0,04	0,18	0,08	<0,005	0,63	1,92
1,2,3,7,8 P5CDF	0,04	0,05	0,05	0,03	0,04	0,06	0,06	0,07	0,31
2,3,4,7,8 P5CDF	0,02	0,07	0,11	<0,005	0,06	0,17	<0,005	0,27	1,61
1,2,3,4,7,8 H6CDF	<0,01	0,18	0,12	0,05	<0,01	<0,01	0,04	0,05	0,16
1,2,3,6,7,8 H6CDF	0,06	0,06	0,12	0,06	<0,01	0,05	0,06	0,04	0,16
1,2,3,7,8,9 H6CDF	0,04	0,06	0,06	0,06	<0,01	<0,01	<0,01	0,07	<0,01
2,3,4,6,7,8 H6CDF	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	0,08
1,2,3,4,6,7,8 H7CDF	0,16	0,10	0,17	0,07	0,06	0,15	0,04	0,13	0,04
1,2,3,4,7,8,9 H7CDF	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	0,04
OCDF	0,16	0,11	0,23	0,08	0,15	0,23	0,09	<0,015	0,16
Σ=	2,17	1,52	1,59	0,99	1,72	3,06	0,48	2,29	5,56

Appendice 3 Concentrazione di PCDD e PCDF; valori espressi in pg/g, relativi al peso fresco per il tempo I.

tempo 2 Peso Fresco Congenere	Fitoplancton pg/g	Zooplancton pg/g	Gobius paganellus pg/g	Chamaelea gallina pg/g	Mytilus galloprovincialis pg/g	Engraulis encrasicolus pg/g	Sardina pilchardus pg/g	Scomber scombrus pg/g
PCDD								
2,3,7,8T4CDD	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	0,06
1,2,3,7,8 P5CDD	<0,005	0,02	0,09	0,02	0,02	0,04	0,02	0,02
1,2,3,4,7,8 H6CDD	<0,01	<0,01	<0,01	0,36	0,14	0,23	<0,01	0,07
1,2,3,6,7,8 H6CDD	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	0,14	0,23	<0,01	<0,01
1,2,3,7,8,9 H6CDD	<0,01	<0,01	<0,01	0,37	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
1,2,3,4,6,7,8 H7CDD	0,02	0,06	0,13	0,40	0,21	0,11	0,07	0,05
OCDD	0,10	0,22	0,04	0,81	0,82	0,27	0,38	0,34
PCDF								
2,3,7,8T4CDF	0,02	0,02	1,13	0,21	0,33	0,12	1,07	0,97
1,2,3,7,8 P5CDF	<0,005	<0,005	0,24	0,05	0,06	0,08	0,15	0,13
2,3,4,7,8 P5CDF	<0,005	<0,005	0,52	0,14	0,12	<0,005	0,66	0,40
1,2,3,4,7,8 H6CDF	<0,01	0,07	<0,01	0,33	0,07	<0,01	0,12	0,08
1,2,3,6,7,8 H6CDF	0,04	0,10	<0,01	0,20	0,10	0,06	0,10	<0,01
1,2,3,7,8,9 H6CDF	<0,01	<0,01	<0,01	0,20	0,15	<0,01	<0,01	<0,01
2,3,4,6,7,8 H6CDF	0,02	0,04	0,04	0,17	0,04	0,04	0,10	<0,01
1,2,3,4,6,7,8 H7CDF	0,02	0,05	0,04	0,21	0,04	0,04	0,04	<0,01
1,2,3,4,7,8,9 H7CDF	0,02	0,04	0,04	0,28	0,04	0,05	0,06	0,05
OCDF	0,03	0,19	0,11	0,69	0,29	0,19	0,21	0,19
Σ=	0,27	0,81	2,36	4,44	2,57	1,46	2,98	2,36

Appendice 4 Concentrazione di PCDD e PCDF; valori espressi in pg/g, relativi al peso fresco per il tempo 2.

tempo I Grasso Congenere	Zooplankton pg/g	Gobius paganellus pg/g	Chamelea gallina pg/g	Mytilus galloprovincialis pg/g	Engraulis encrasicolus pg/g	Sardina pilchardus pg/g	Scomber scombrus pg/g	Euthynnus alletteratus pg/g
PCDD								
2,3,7,8 T4CDD	<0,005	6,25	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	2,87
1,2,3,7,8 P5CDD	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	1,46	<0,005	<0,005	4,03
1,2,3,4,7,8 H6CDD	<0,01	<0,01	10,78	13,54	<0,01	<0,01	5,97	<0,01
1,2,3,6,7,8 H6CDD	6,33	<0,01	13,18	5,83	3,98	<0,01	4,28	7,83
1,2,3,7,8,9 H6CDD	<0,01	<0,01	5,45	<0,01	2,04	<0,01	<0,01	<0,01
1,2,3,4,6,7,8 H7CDD	<0,01	18,75	<0,01	2,08	6,31	<0,01	<0,01	1,47
OCDD	26,19	222,50	42,27	50,63	46,60	27,57	16,32	4,88
PCDF								
2,3,7,8 T4CDF	2,16	<0,005	4,55	10,83	2,04	<0,005	16,12	37,13
1,2,3,7,8 P5CDF	1,87	16,25	3,64	2,08	1,46	9,19	1,69	6,05
2,3,4,7,8 P5CDF	2,88	35,00	<0,005	3,54	4,47	<0,005	6,77	31,16
1,2,3,4,7,8 H6CDF	7,19	41,25	5,91	<0,01	<0,01	5,41	1,19	3,02
1,2,3,6,7,8 H6CDF	2,30	38,75	7,27	<0,01	1,26	9,19	1,00	3,10
1,2,3,7,8,9 H6CDF	2,45	18,75	7,27	<0,01	<0,01	<0,01	1,69	<0,01
2,3,4,6,7,8 H6CDF	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	1,63
1,2,3,4,6,7,8 H7CDF	3,88	57,50	8,18	3,33	3,88	5,41	3,38	0,78
1,2,3,4,7,8,9 H7CDF	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	0,78
OCDF	4,17	76,25	9,09	8,96	6,12	12,43	<0,015	3,02
Σ=	59,42	531,25	117,60	100,83	79,61	69,19	58,41	107,75

Appendice 5 Concentrazione di PCDD e PCDF; valori espressi in pg/g, relativi al grasso per il tempo I.

tempo 2 Grasso Congenere	Zooplankton pg/g	Gobius paganellus pg/g	Chamelea gallina pg/g	Mytilus galloprovincialis pg/g	Engraulis encrasicolus pg/g	Sardina pilchardus pg/g	Scomber scombrus pg/g
PCDD							
2,3,7,8 T4CDD	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	1,00
1,2,3,7,8 P5CDD	6,25	18,33	3,70	2,73	4,58	0,24	0,36
1,2,3,4,7,8 H6CDD	<0,01	<0,01	66,67	16,36	25,00	0,49	1,29
1,2,3,6,7,8 H6CDD	<0,01	<0,01	<0,01	15,45	24,58	<0,01	<0,01
1,2,3,7,8,9 H6CDD	<0,01	<0,01	68,15	4,55	4,17	<0,01	<0,01
1,2,3,4,6,7,8 H7CDD	21,25	27,50	74,81	<0,01	<0,01	<0,01	0,93
OCDD	78,75	7,50	150,37	93,64	29,17	4,84	6,21
PCDF							
2,3,7,8 T4CDF	6,25	239,17	40,00	37,27	12,92	13,64	17,64
1,2,3,7,8 P5CDF	<0,005	50,83	9,63	6,36	9,17	1,96	2,43
2,3,4,7,8 P5CDF	<0,005	110,83	26,67	13,64	<0,005	8,41	7,21
1,2,3,4,7,8 H6CDF	23,75	<0,01	61,48	8,18	<0,01	1,52	1,43
1,2,3,6,7,8 H6CDF	33,75	<0,01	37,04	11,82	6,25	1,32	<0,01
1,2,3,7,8,9 H6CDF	<0,01	<0,01	37,04	16,82	<0,01	<0,01	<0,01
2,3,4,6,7,8 H6CDF	12,50	8,33	31,11	4,55	4,17	1,22	<0,01
1,2,3,4,6,7,8 H7CDF	18,75	7,50	40,00	4,09	4,58	0,49	<0,01
1,2,3,4,7,8,9 H7CDF	15,00	8,33	51,85	4,55	5,42	0,73	0,93
OCDF	67,50	24,17	129,63	32,73	20,83	2,64	3,36
Σ=	283,75	502,50	828,15	272,73	150,83	37,51	42,79

Appendice 6 Concentrazione di PCDD e PCDF; valori espressi in pg/g, relativi al grasso per il tempo 2.

tempo I Peso Fresco Congenere	WHO 1998 TEF	Fitoplankton pg-TEQ/g	Zooplankton pg-TEQ/g	Gobius paganellus pg-TEQ/g	Chamelea gallina pg-TEQ/g	Mytilus galloprovincialis pg-TEQ/g	Engraulis encrasicolus pg-TEQ/g	Sardina pilchardus pg-TEQ/g	Scomber scombrus pg-TEQ/g	Euthynnus alletteratus pg-TEQ/g
PCDD										
2,3,7,8 T4CDD	1	0,033	0,005	0,019	0,005	0,005	0,005	0,005	0,005	0,148
1,2,3,7,8 P5CDD	1	0,005	0,005	0,005	0,005	0,005	0,056	0,005	0,005	0,208
1,2,3,4,7,8 H6CDD	0,1	0,001	0,001	0,001	0,009	0,023	0,001	0,001	0,023	0,001
1,2,3,6,7,8 H6CDD	0,1	0,015	0,016	0,001	0,011	0,010	0,015	0,001	0,017	0,040
1,2,3,7,8,9 H6CDD	0,1	0,004	0,001	0,001	0,005	0,001	0,008	0,001	0,001	0,001
1,2,3,4,6,7,8 H7CDD	0,01	0,001	0,000	0,001	0,000	0,000	0,002	0,000	0,000	0,001
OCDD	0,0001	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
PCDF										
2,3,7,8 T4CDF	0,1	0,001	0,006	0,001	0,004	0,018	0,008	0,001	0,063	0,192
1,2,3,7,8 P5CDF	0,05	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,003	0,003	0,003	0,016
2,3,4,7,8 P5CDF	0,5	0,009	0,037	0,053	0,003	0,030	0,086	0,003	0,133	0,804
1,2,3,4,7,8 H6CDF	0,1	0,001	0,018	0,012	0,005	0,001	0,001	0,004	0,005	0,016
1,2,3,6,7,8 H6CDF	0,1	0,006	0,006	0,012	0,006	0,001	0,005	0,006	0,004	0,016
1,2,3,7,8,9 H6CDF	0,1	0,004	0,006	0,006	0,006	0,001	0,001	0,001	0,007	0,001
2,3,4,6,7,8 H6CDF	0,1	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,008
1,2,3,4,6,7,8 H7CDF	0,01	0,002	0,001	0,002	0,001	0,001	0,001	0,000	0,001	0,000
1,2,3,4,7,8,9 H7CDF	0,01	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
OCDF	0,0001	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
\sum (equivalenti di tossicità pgWHO- TEQ/g fresco)=		0,086	0,106	0,115	0,062	0,100	0,194	0,032	0,268	1,45

Appendice 7 Diossina (somma di PCDD e PCDF) espressi in equivalenti di tossicità (fattore di tossicità equivalente) Valori sono relativi al tempo I. Tutti i valori dei vari congenere inferiori al limite di quantificazione vengono posti pari al limite di quantificazione (concentrazioni upper bound).

tempo 2 Peso Fresco Congenere	WHO 1998TEF	Fitoplankton pg-TEQ/g	Zooplankton pg-TEQ/g	Gobius paganellus pg-TEQ/g	Chamaelea gallina pg-TEQ/g	Mytilus galloprovincialis pg-TEQ/g	Engraulis encrasicolus pg-TEQ/g	Sardina pilchardus pg-TEQ/g	Scomber scombrus pg-TEQ/g
PCDD									
2,3,7,8 T4CDD	1	0,005	0,005	0,005	0,005	0,005	0,005	0,005	0,055
1,2,3,7,8 P5CDD	1	0,005	0,018	0,086	0,020	0,024	0,042	0,019	0,020
1,2,3,4,7,8 H6CDD	0,1	0,001	0,001	0,001	0,036	0,014	0,023	0,001	0,007
1,2,3,6,7,8 H6CDD	0,1	0,001	0,001	0,001	0,001	0,014	0,023	0,001	0,001
1,2,3,7,8,9 H6CDD	0,1	0,001	0,001	0,001	0,037	0,001	0,001	0,001	0,001
1,2,3,4,6,7,8 H7CDD	0,01	0,000	0,001	0,001	0,004	0,002	0,001	0,001	0,001
OCDD	0,0001	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
PCDF									
2,3,7,8 T4CDF	0,1	0,002	0,002	0,113	0,021	0,033	0,012	0,107	0,097
1,2,3,7,8 P5CDF	0,05	0,000	0,000	0,012	0,003	0,003	0,004	0,008	0,007
2,3,4,7,8 P5CDF	0,5	0,003	0,003	0,261	0,071	0,060	0,003	0,331	0,199
1,2,3,4,7,8 H6CDF	0,1	0,001	0,007	0,001	0,033	0,007	0,001	0,012	0,008
1,2,3,6,7,8 H6CDF	0,1	0,004	0,010	0,001	0,020	0,010	0,006	0,010	0,001
1,2,3,7,8,9 H6CDF	0,1	0,001	0,001	0,001	0,020	0,015	0,001	0,001	0,001
2,3,4,6,7,8 H6CDF	0,1	0,002	0,004	0,004	0,017	0,004	0,004	0,010	0,001
1,2,3,4,6,7,8 H7CDF	0,01	0,000	0,001	0,000	0,002	0,000	0,000	0,000	0,000
1,2,3,4,7,8,9 H7CDF	0,01	0,000	0,000	0,000	0,003	0,000	0,000	0,001	0,001
OCDF	0,0001	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
Σ (equivalenti di tossicità pgWHO-TEQ/g fresco)=		0,027	0,053	0,488	0,292	0,193	0,126	0,508	0,399

Appendice 8 Diossina (PCDD e PCDF) espressi in equivalenti di tossicità WHO-TEF (fattore di tossicità equivalente). Valori sono relativi al tempo 2. Tutti i valori dei vari congenere inferiori al limite di quantificazione vengono posti pari al limite di quantificazione (concentrazioni upper bound).

tempo I	Fitoplancton	Zooplancton	Gobius pagannellus	Chamelea gallina	Mytilus galloprovincialis	Engraulis encrasicolus	Sardina pilchardus	Scomber scombrus	Eurhynchus alletteratus
Peso fresco	ng/g	ng/g	ng/g	ng/g	ng/g	ng/g	ng/g	ng/g	ng/g
Congeneri	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	0,45	0,41	0,69	<0,1
PCB-BZ28	<0,1	0,19	<0,1	0,12	0,60	4,95	0,13	2,36	2,34
PCB-BZ52	<0,1	0,28	0,25	0,19	1,06	8,24	0,82	4,87	5,72
PCB-BZ95	<0,1	0,47	0,35	0,28	1,97	17,62	0,17	12,92	14,78
PCB-BZ101	<0,1	0,25	0,46	0,13	0,64	6,71	0,48	6,07	12,49
PCB-BZ99	<0,1	0,31	0,20	0,13	1,03	4,67	0,42	6,58	8,80
PCB-BZ110	<0,1	0,14	0,38	<0,1	0,67	2,59	0,95	5,45	10,54
PCB-BZ151	<0,1	0,42	0,87	0,31	1,95	12,72	0,88	15,20	2,75
PCB-BZ149	<0,1	0,40	0,56	0,15	0,98	4,82	1,03	9,23	20,18
PCB-BZ118	<0,1	0,23	0,53	0,11	0,58	2,18	0,65	6,61	18,09
PCB-BZ146	<0,1	1,06	3,35	0,55	3,54	13,98	5,22	37,83	109,68
PCB-BZ153	<0,1	0,10	0,17	<0,1	0,29	0,85	0,17	2,44	4,99
PCB-BZ105	<0,1	0,94	2,78	0,44	2,54	8,44	4,05	34,11	77,77
PCB-BZ138	<0,1	0,29	1,16	0,26	1,06	4,12	1,73	12,32	34,81
PCB-BZ187	<0,1	<0,1	0,34	<0,1	0,36	5,11	1,97	3,45	9,25
PCB-BZ183	<0,1	0,13	0,45	0,11	0,41	2,21	0,45	6,33	9,11
PCB-BZ177	<0,1	0,35	1,93	0,16	0,11	0,90	1,39	22,32	51,83
PCB-BZ180	<0,1	<0,1	0,78	<0,1	<0,1	<0,1	0,66	9,64	19,73
PCB-BZ170	<0,1	5,56	14,55	2,95	17,79	100,56	21,57	198,42	412,89
Σ=									

Appendice 9 Concentrazione dei PCB, valori espressi in ng/g, relativi al peso fresco tempo I.

tempo2 Peso fresco Congenere	Fitoplancton ng/g	Zooplancton ng/g	Gobius paganellus ng/g	Chamelea gallina ng/g	Mytilus galloprovincialis ng/g	Engraulis encrasicolus ng/g	Sardina pilchardus ng/g	Scomber scombrus ng/g
PCB-BZ28	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1
PCB-BZ52	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	0,14	0,20	0,22	4,50
PCB-BZ95	<0,1	0,14	0,27	<0,1	0,30	0,71	0,44	8,58
PCB-BZ101	<0,1	0,17	0,35	0,12	0,60	1,16	0,39	25,33
PCB-BZ99	<0,1	<0,1	0,45	<0,1	0,26	0,52	0,50	11,63
PCB-BZ110	<0,1	0,10	0,19	<0,1	0,36	0,62	0,57	12,45
PCB-BZ151	<0,1	<0,1	0,42	<0,1	0,29	0,52	0,37	10,63
PCB-BZ149	<0,1	0,14	0,81	0,14	0,76	1,50	1,00	29,73
PCB-BZ118	<0,1	0,10	0,47	<0,1	0,32	0,77	0,55	18,78
PCB-BZ146	<0,1	0,10	0,44	<0,1	0,32	0,69	0,42	14,74
PCB-BZ153	<0,1	0,31	2,70	0,30	1,70	3,49	2,22	84,66
PCB-BZ105	<0,1	<0,1	0,16	<0,1	<0,1	<0,1	0,16	5,09
PCB-BZ138	<0,1	0,25	2,21	0,25	1,44	3,14	1,80	68,85
PCB-BZ187	<0,1	<0,1	1,11	0,14	0,64	1,20	0,64	26,57
PCB-BZ183	<0,1	<0,1	0,25	<0,1	0,20	0,28	0,20	6,92
PCB-BZ177	<0,1	<0,1	0,40	<0,1	0,23	0,42	0,17	10,75
PCB-BZ180	<0,1	0,10	1,16	0,13	0,18	1,57	0,69	33,95
PCB-BZ170	<0,1	<0,1	0,39	<0,1	<0,1	0,67	0,28	14,12
Σ=	<0,1	1,41	11,79	1,08	7,72	17,47	10,61	387,28

Appendice 10 Concentrazione dei PCB, valori espressi in ng/g, relativi al peso fresco tempo 2.

tempo I Grasso	Zooplankton	Gobius pagannellus	Chamelea gallina	Mytilus galloprovincialis	Engraulis encrasicolus	Sardina pilchardus	Scomber scombrus	Euthynnus alletteratus
Congenere	ng/g	ng/g	ng/g	ng/g	ng/g	ng/g	ng/g	ng/g
PCB-BZ28	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	11,68	57,94	17,64	<0,1
PCB-BZ52	7,39	<0,1	14,07	35,40	128,90	19,16	60,26	45,41
PCB-BZ95	10,82	81,81	23,15	61,91	214,65	116,71	124,09	110,92
PCB-BZ101	18,18	116,48	33,40	115,12	458,76	24,52	329,22	286,50
PCB-BZ99	9,72	152,10	15,60	37,70	174,65	68,61	154,61	242,13
PCB-BZ110	11,97	65,84	16,09	60,60	121,66	59,84	167,71	170,59
PCB-BZ151	5,47	127,40	<0,1	39,43	67,32	136,11	138,83	204,17
PCB-BZ149	16,52	288,41	37,04	114,37	331,02	125,02	387,34	53,32
PCB-BZ118	15,66	187,48	17,54	57,16	125,47	147,65	235,23	391,01
PCB-BZ146	9,01	175,70	13,17	33,69	56,71	92,38	168,60	350,65
PCB-BZ153	41,42	1117,15	66,30	207,17	364,07	745,50	964,31	2125,66
PCB-BZ105	4,00	57,50	<0,1	17,20	22,15	23,78	62,10	96,78
PCB-BZ138	36,67	924,99	52,99	148,71	219,64	578,41	869,45	1507,26
PCB-BZ187	11,31	386,23	31,34	62,14	107,35	247,74	314,05	674,62
PCB-BZ183	<0,1	113,06	<0,1	21,28	133,01	281,29	87,81	179,22
PCB-BZ177	5,22	150,80	12,74	23,95	57,41	63,59	161,40	176,62
PCB-BZ180	13,49	642,20	19,77	6,17	23,44	198,31	568,88	1004,55
PCB-BZ170	<0,1	260,54	<0,1	<0,1	<0,1	94,09	245,60	382,31
Σ=	216,83	4847,68	353,20	1041,98	2617,89	3080,64	5057,13	8001,70

Appendice I | Concentrazione dei PCB, valori espressi in ng/g, relativi al grasso tempo I.

tempo2 Grasso	Zooplankton ng/g	Gobius paganellus ng/g	Chamaelea gallina ng/g	Mytilus galloprovincialis ng/g	Engraulis encrasicolus ng/g	Sardina pilchardus ng/g	Scorpaenopsis scombrus ng/g
Congeneri	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1
PCB-BZ28	<0,1	<0,1	<0,1	15,60	21,22	2,78	40,77
PCB-BZ52	<0,1	<0,1	<0,1	33,62	77,34	5,58	77,72
PCB-BZ95	47,39	57,32	<0,1	68,26	125,60	4,92	229,37
PCB-BZ101	60,23	74,53	22,06	29,63	56,92	6,33	105,32
PCB-BZ99	<0,1	96,38	<0,1	40,55	67,33	7,23	112,75
PCB-BZ110	35,25	39,81	<0,1	32,63	56,96	4,65	96,27
PCB-BZ151	<0,1	89,82	<0,1	86,14	162,66	12,67	269,28
PCB-BZ149	50,25	171,87	26,12	36,25	83,40	7,01	170,08
PCB-BZ118	34,18	100,81	<0,1	35,85	75,07	5,30	133,48
PCB-BZ146	33,90	93,05	<0,1	192,72	379,63	28,28	766,75
PCB-BZ153	108,59	573,18	55,77	<0,1	<0,1	2,08	46,11
PCB-BZ105	<0,1	32,99	<0,1	163,50	341,00	22,94	623,60
PCB-BZ138	88,73	469,80	47,47	72,81	130,24	8,18	240,66
PCB-BZ187	<0,1	235,63	25,79	22,63	30,03	2,53	62,69
PCB-BZ183	<0,1	53,84	4,98	26,25	45,82	2,12	97,37
PCB-BZ177	<0,1	86,06	9,20	20,87	171,00	8,75	307,51
PCB-BZ180	35,59	247,48	24,72	<0,1	73,13	3,52	127,90
PCB-BZ170	<0,1	83,87	<0,1	877,30	1897,33	134,88	3507,63
Σ=	494,09	2506,41	216,10				

Appendice 12 Concentrazione dei PCB valori espressi in ng/g, relativi al grasso tempo 2.

tempo I Peso fresco IPA	Fitoplancton ng/g	Zooplancton ng/g	Gobius paganellus ng/g	Chamaelea gallina ng/g	Mytilus galloprovincialis ng/g	Engraulis encrasicolus ng/g	Sardina pilchardus ng/g	Scomber scombrus ng/g	Euthynnus alletteratus ng/g
Naftalene	<0,05	0,76	0,18	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	0,34	<0,05
Acenafilene	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	0,13	<0,05
Acenaftene	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
Fluorene	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
Fenantrene	0,27	0,78	0,62	0,70	1,20	0,75	0,52	1,00	0,66
Antracene	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	0,05	0,05	<0,05	<0,05	<0,05
Fluorantene	0,26	0,37	0,31	0,78	1,08	0,43	0,45	0,58	0,61
Pirene	0,65	0,52	0,60	1,99	1,02	0,78	1,04	1,60	0,40
Benzo(a)antracene	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	0,10	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
Crisene	<0,05	0,07	<0,05	0,08	0,14	1,08	<0,05	<0,05	0,14
Benzo(b)fluorantene	<0,05	0,10	<0,05	0,06	0,19	<0,05	<0,05	<0,05	0,27
Benzo(k)fluorantene	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	0,07
Benzo(e)pirene	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	0,17	<0,05	<0,05	<0,05	0,35
Benzo(a)pirene	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	0,08
Indeno(1,2,3-cd)pirene	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	0,10	<0,05	<0,05	<0,05	0,52
Dibenzo(a,h)antracene	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
Benzo(g,h,i)perilene	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	0,13	0,05	<0,05	<0,05	1,24
Dibenzo(a,i)pirene	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1
Dibenzo(a,e)pirene	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1
Dibenzo(a,i)pirene	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1
Dibenzo(a,h)pirene	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1
Σ=	1,18	2,60	1,70	3,61	4,17	3,13	2,02	3,64	4,36

Appendice I3 Concentrazione di IPA, valori espressi in ng/g, relativi al peso fresco Tempo I.

tempo 2 Peso fresco IPA	Fitoplancton ng/g	Zooplancton ng/g	Gobius paganellus ng/g	Chamelea gallina ng/g	Mytilus galloprovincialis ng/g	Engraulis encrasicolus ng/g	Sardina pilchardus ng/g	Scomber scombrus ng/g
Naftalene	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	0,27	<0,05	<0,05	<0,05
Acenafilene	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
Acenafene	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
Fluorene	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
Fenantrene	0,11	0,56	0,21	1,85	1,78	0,53	2,06	0,39
Antracene	<0,05	<0,05	<0,05	0,26	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
Fluorantene	0,09	0,70	0,12	1,33	0,69	0,65	0,52	0,51
Pirene	0,18	0,69	0,14	1,25	0,55	0,76	0,32	0,40
Benzo(a)antracene	<0,05	<0,05	<0,05	0,28	0,05	0,06	<0,05	<0,05
Crisene	<0,05	0,16	<0,05	0,43	0,22	0,20	0,07	0,10
Benzo(b+)fluorantene	<0,05	0,08	<0,05	0,31	0,24	0,12	0,07	0,07
Benzo(k)fluorantene	<0,05	<0,05	<0,05	0,08	0,07	<0,05	<0,05	<0,05
Benzo(e)pirene	<0,05	0,05	<0,05	0,23	0,24	0,08	<0,05	<0,05
Benzo(a)pirene	<0,05	<0,05	<0,05	0,14	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
Indeno(1,2,3-cd)pirene	<0,05	<0,05	<0,05	0,17	0,08	0,07	0,05	<0,05
Dibenzo(a,h)antracene	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
Benzo(g,h,i)perilene	<0,05	<0,05	<0,05	0,21	0,12	0,07	0,05	0,07
Dibenzo(a,l)pirene	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1
Dibenzo(a,e)pirene	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1
Dibenzo(a,i)pirene	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1
Dibenzo(a,h)pirene	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1
Σ=	0,38	2,24	0,47	6,52	4,31	2,53	3,15	1,54

Appendice 14 Concentrazione di IPA, valori espressi in ng/g, relativi al peso fresco Tempo2.

tempo Grasso	Zooplankton ng/g	Gobius paganellus ng/g	Chamelea gallina ng/g	Mytilus galloprovincialis ng/g	Engraulis encrasicolus ng/g	Sardina pilchardus ng/g	Scomber scombrus ng/g	Eurhynchus alleteranus ng/g
IPA	30,15	59,68	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
Naftalene	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
Acenafilene	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
Acenafene	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
Fluorene	30,60	209,48	83,42	70,48	19,54	73,42	25,59	12,00
Fenantrene	<0,05	<0,05	<0,05	2,90	1,40	<0,05	<0,05	<0,05
Antracene	14,67	103,96	93,90	63,19	11,19	63,53	14,67	11,14
Fluorantene	20,50	201,04	238,98	59,43	20,33	146,13	40,72	7,17
Pirene	<0,05	<0,05	<0,05	5,96	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
Benzo(a)antracene	2,88	5,08	9,58	8,42	28,33	2,87	0,61	2,60
Crisene	3,76	<0,05	6,96	11,04	<0,05	<0,05	<0,05	4,94
Benzo(b+)fluorantene	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	1,33
Benzo(k)fluorantene	<0,05	<0,05	<0,05	9,78	<0,05	<0,05	<0,05	6,37
Benzo(e)pirene	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	1,52
Benzo(a)pirene	<0,05	<0,05	<0,05	5,63	<0,05	<0,05	<0,05	9,48
Indeno(1,2,3-cd)pirene	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
Dibenzo(a,h)antracene	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
Benzo(g,h,i)perilene	<0,1	<0,1	<0,1	7,42	1,32	<0,05	<0,05	22,56
Dibenzo(a,i)pirene	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1
Dibenzo(a,e)pirene	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1
Dibenzo(a,i)pirene	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1
Dibenzo(a,h)pirene	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1
Σ	102,56	579,24	432,85	244,25	82,10	285,96	81,58	79,11

Appendice 15 Concentrazione di IPA, valori espressi in ng/g, relativi al grasso Tempol.

tempo2 Grasso	Zooplankton	<i>Gobius pagannellus</i>	<i>Chamelea gallina</i>	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	<i>Engraulis encrasicolus</i>	<i>Sardina pilchardus</i>	<i>Scomber scombrus</i>
IPA	ng/g	ng/g	ng/g	ng/g	ng/g	ng/g	ng/g
Naftalene	<0,05	<0,05	<0,05	40,09	<0,05	<0,05	<0,05
Acenaftilene	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
Acenaftene	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
Fluorene	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
Fenantrene	175,28	45,64	356,57	267,74	90,30	36,44	3,74
Antracene	<0,05	<0,05	49,63	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
Fluorantene	217,04	25,60	256,77	103,29	112,17	9,21	4,92
Pirene	213,24	31,52	241,77	82,74	130,07	5,73	3,88
Benzo(a)antracene	<0,05	<0,05	53,20	7,63	10,70	<0,05	<0,05
Crisene	49,96	<0,05	82,67	33,51	34,70	1,23	1,01
Benzo(b+)fluorantene	26,24	<0,05	59,33	36,43	19,97	1,30	0,71
Benzo(k)fluorantene	<0,05	<0,05	16,33	10,83	<0,05	<0,05	<0,05
Benzo(e)pirene	14,52	<0,05	43,60	35,74	13,03	<0,05	<0,05
Benzo(a)pirene	<0,05	<0,05	26,20	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
Indeno(1,2,3-cd)pirene	<0,05	<0,05	32,00	12,43	11,93	0,92	<0,05
Dibenzo(a,h)antracene	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
Benzo(g,h,i)perilene	<0,05	<0,05	40,80	18,57	12,20	0,84	0,65
Dibenzo(a,l)pirene	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1
Dibenzo(a,e)pirene	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1
Dibenzo(a,i)pirene	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1
Dibenzo(a,h)pirene	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1
Σ	696,28	102,76	1258,87	649,00	435,07	55,67	14,91

Appendice 16 Concentrazione di IPA, valori espressi in ng/g, relativi al grasso Tempo2.

Allegati

I. Osservazioni su alcuni campioni di alacce raccolti in seguito alla moria del 2010

di Attilio Rinaldi

Dalla terza settimana di gennaio 2010 si è verificata una diffusa moria di Alacce o Aringa mediterranea (*Sardinella aurita* appartenente alla famiglia delle Clupeiformi) (Figura 1), provocata da ipotermia. Si è trattato di un fenomeno già verificatosi nel periodo gennaio/febbraio 2002.

Questa specie è di recente intrusione nell'alto Adriatico, la sua migrazione nei bacini settentrionali del mediterraneo è stata favorita dall'innalzamento delle temperatura delle acque. Il suo originario areale di distribuzione era costituito dalla fascia meridionale del Mediterraneo, negli ultimi quindici anni

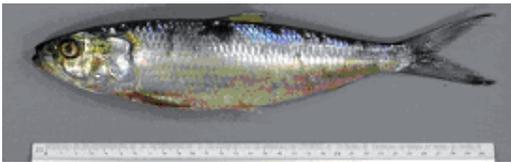


Figura 1 *Sardinella aurita*.



Figura 2 Spiaggia di Cesenatico, 8 febbraio 2010.

questo si è esteso a gran parte del bacino. Si tratta pertanto di una specie abituata ad acque caldo-temperate che mal tollera temperature basse inferiori a 6°C. La temperatura delle acque superficiali dell'Adriatico Nord-occidentale rilevata durante il periodo nel quale si è osservata la moria è risultata compresa fra 4,55 e 5,40°C.

Le prime osservazioni del fenomeno risalgono al 24-25 gennaio 2010, ad una distanza compresa tra 6 e 10 Km dalla costa, dove furono visti in superficie molti esemplari di *Sardinella aurita* in fase preagonica e in parte già morti. Le condizioni di mare mosso del 6 e 7 febbraio hanno favorito poi lo spiaggiamento degli organismi lungo il tratto di costa centro-meridionale dell'Emilia Romagna.

Su un campione di esemplari prelevati il 7 febbraio 2010 a Marina di Ravenna, sono state eseguite da parte dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna, le analisi chimiche per la ricerca di alcuni microinquinanti (in particolare tra questi sono state prese in esame diossine e furani). Confrontando i valori riscontrati nei campioni di *Sardinella aurita* con quelli rilevati nelle altre specie di biota si osserva che le concentrazioni risultano confrontabili e i due congeneri più abbondanti sono 2,3,7,8 TCDF e 2,3,4,6,7,8 P5CDF come per le specie *Euthynnus alletteratus* (Tempo 1) (Figura 3) e *Sardina pilchardus*, *Gobius paganellus*, *Scomber scombrus* (Tempo 2) (Figura 4).

Si osserva che la somma delle concentrazioni di diossine riscontrate in *Sardinella aurita* sono

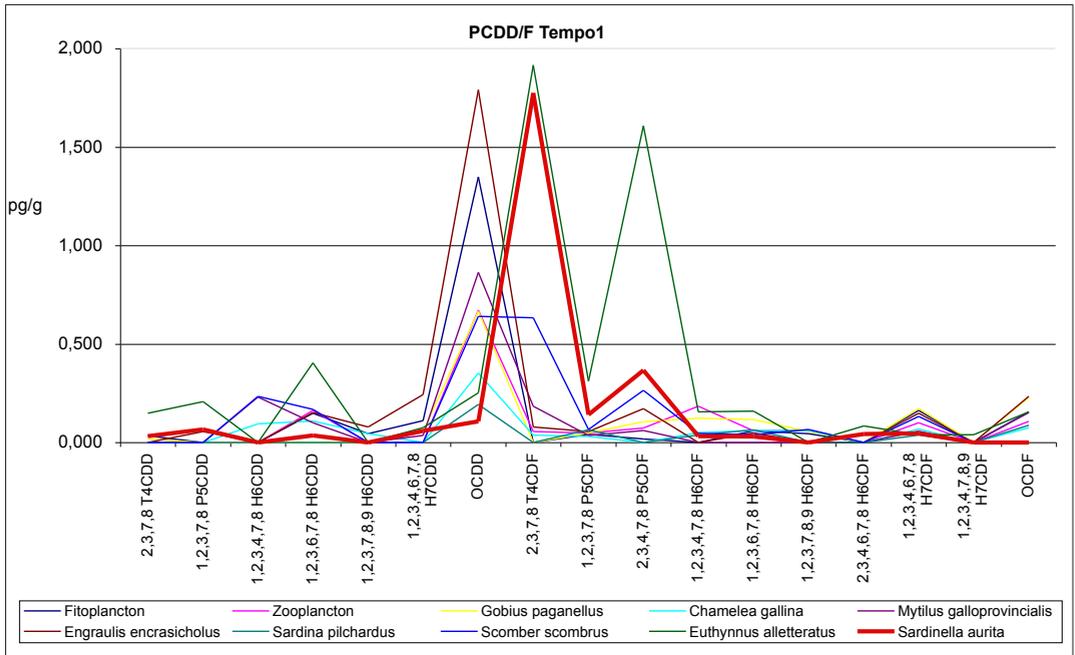


Figura 3 Concentrazioni di PCDD e PCDF relative al peso fresco:Tempo I.

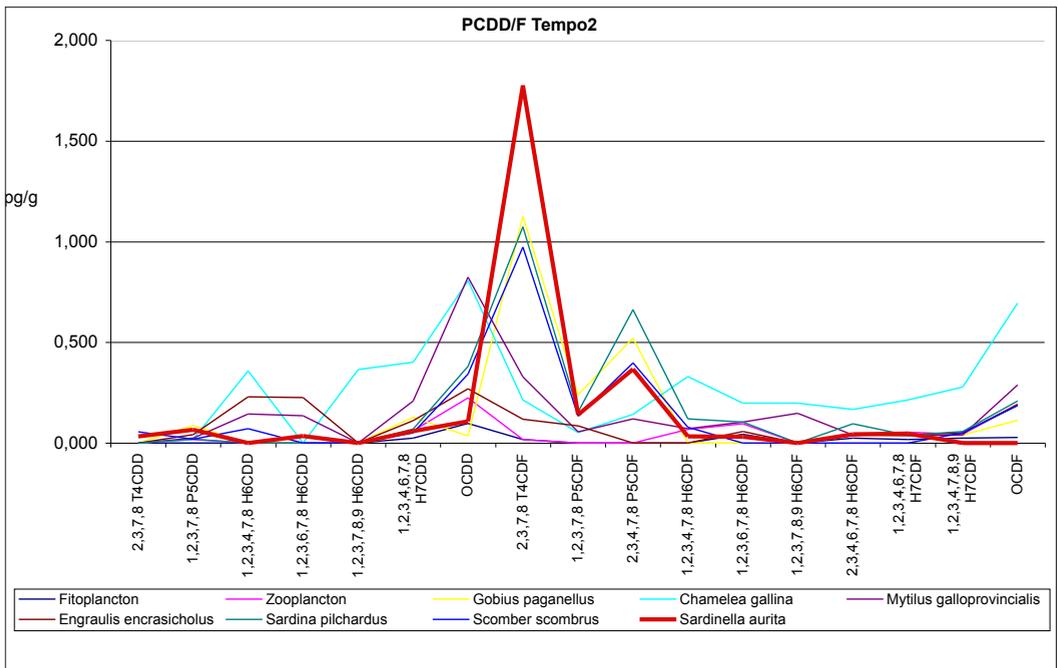


Figura 4 Concentrazioni di PCDD e PCDF relative al peso fresco:Tempo2.

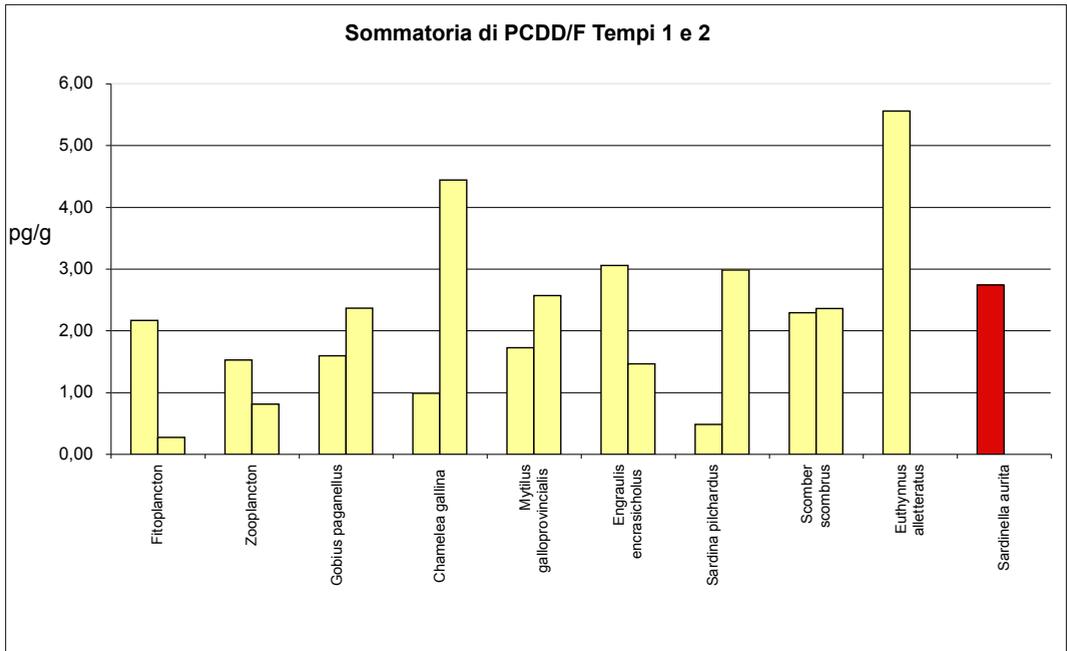


Figura 5 Somma delle concentrazioni di PCDD e PCDF per i due tempi di indagine, relative al peso fresco.

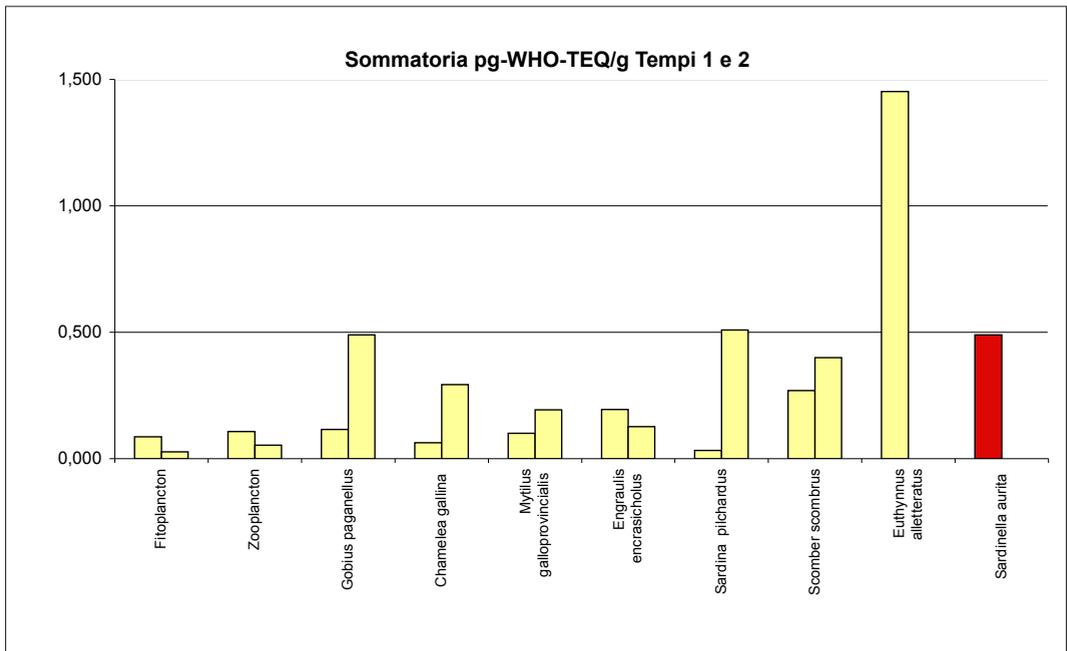


Figura 6 Confronto fra TEQ in base a WHO-TEF 1998 per i due tempi di indagine T1 e T2.

vicine a quelle trovate nelle altre specie, inferiori solo a *Euthynnus alletteratus* (Figura 5). Per quanto riguarda la valutazione del rischio tossicologico il valore del TEQ totale relativo a diossine e furani è risultato 0,489 pgTEQ/g di peso fresco quindi inferiore a 4 pg OMS-PCDD/F-TEQ/g come previsto dal Regolamento (CE) N. 1881/2006 (Figura 6), il valore rinvenuto in *Sardinella aurita* è

confrontabile con quello rilevato in *Sardina pilchardus* al Tempo 2, quest' ultima specie trovandosi allo stesso livello trofico è un suo competitore.

Il TEQ totale di diossine, furani e PCB DL è risultato di 6,291 pg TEQ/g peso fresco, anche in questo caso inferiore al limite (8 pg OMS-PCDD/F-PCB-TEQ/g) previsto dallo stesso Regolamento.

2. Metalli pesanti nei cetacei dell'Adriatico settentrionale e possibili effetti sub-letali.

di Annalisa Zaccaroni,¹ Paolo Fonti,² Elena Pari,² Dino Scaravelli¹

Abstract

La contaminazione ambientale rappresenta uno dei principali pericoli per la conservazione degli ecosistemi marini. I predatori di vertice sono particolarmente esposti ai contaminanti e, a causa delle loro caratteristiche fisiologiche, i cetacei possono raggiungere carichi tissutali di inquinanti molto elevate (ad es. organoclorurati e metalli pesanti). Questi mammiferi marini sono quindi considerati buoni indicatori di inquinamento ambientale, in particolare per quanto riguarda la presenza di metalli pesanti.

La ricerca riguarda la presenza di metalli pesanti in tessuti di tursiope (*Tursiops truncatus*) e capodoglio dell'Adriatico settentrionale e riporta alcune speculazioni relative ai possibili effetti sub-letali che questi livelli possono esercitare sulla salute generale degli animali.

Gli esemplari spiaggiati, raccolti lungo le coste dell'Adriatico settentrionale, sono stati sottoposti a necropsia per la determinazione delle cause di morte. Durante l'analisi sono stati prelevati campioni di organi conservati poi a -20°C fino al momento dell'analisi, condotta in Spettroscopia ad Emissione Atomica al Plasma (ICP-AES). I

metalli ricercati sono stati Cr, Ni, Cu, Zn, Hg, As, Se, Cd and Pb e i dati sono riportati come mg/kg (ppm) su base fresca.

Il dato più interessante riguarda alcuni dei più comuni contaminanti per l'ambiente marino (Hg, Cd e Pb) che sono stati reperiti a concentrazioni molto basse, spesso al di sotto del limite di quantificazione (LOD), anche negli organi target di accumulo quali rene e fegato. I valori medi di metalli rilevati sono da considerarsi in linea generale bassi, anche se sufficienti ad esercitare un potenziale effetto immunotossico negli animali, in quanto i livelli reperiti sono comparabili con quelli che si sono dimostrati attivi in vitro sulla citotossicità linfocitaria, l'apoptosi, la proliferazione linfocitaria e l'attività fagocitica, come per altro confermato da alcuni rilievi effettuati in sede necroscopica di ingrossamento dei linfonodi. Vengono anche proposte alcune speculazioni sui potenziali effetti a carico del sistema riproduttivo, anche se non si sono osservati chiari segni di alterazione dell'attività riproduttiva.

I dati ottenuti indicano una ridotta esposizione a metalli pesanti, anche se va tenuta presente una potenziale maggior suscettibilità degli animali a malattie di origine infettiva, a causa di possibili fenomeni di immunodepressione.

¹ Corso di Laurea in Acquacoltura ed Igiene delle Produzioni Ittiche, Gruppo di Ricerca sui grandi Vertebrati Pelagici, Facoltà di Veterinaria, Università di Bologna, Cesenatico.

² CSA Research Centre, Rimini.

Introduzione

L'inquinamento chimico rappresenta uno dei principali pericoli per la conservazione degli ecosistemi acquatici, essendo questi la frazione ambientale dove tutte le sostanze rilasciate anche negli altri compartimenti (aria e suolo) vengono ad accumularsi. L'ambiente acquatico è particolarmente soggetto a fenomeni di bioaccumulo, che ha una grande rilevanza per le specie al vertice della catena trofica, come pesci predatori, cetacei e uomo, che sono quindi particolarmente a rischio.

Le sostanze chimiche che hanno una particolare importanza tossicologica sono quelle che, in conseguenza delle loro caratteristiche chimico-fisiche, hanno una degradazione molto lenta o assente, per cui persistono nell'ambiente e si concentrano a diversi livelli dell'ecosistema. Tra queste sostanze rivestono un ruolo particolarmente importante i metalli pesanti (piombo, cadmio, rame) e i composti organoclorurati (insetticidi, diossine e PCB).

Nel report UNEP (1999) l'Italia è considerata al primo posto per il rilascio di metalli pesanti in ambiente, rendendosi responsabile del 30% del rilascio totale di piombo, rame e zinco in Mediterraneo. Annualmente l'Italia produce infatti 2174 tonnellate di Pb, 8576 di rame e 1949 di zinco. Il rilascio di mercurio complessivo da parte di Italia e Grecia arriva a 13 tonnellate.

Essendo il Mediterraneo un bacino chiuso, è caratterizzato da un ridotto scambio idrico ed è esposto ad un rischio più elevato di inquinamento chimico, derivante da accumulo delle sostanze introdotte nelle sue acque.

È quindi estremamente importante conoscere i livelli di contaminazione in questo mare, anche valutando le loro concentrazioni nelle specie marine poste al vertice delle catene trofiche, che permette una valutazione del

rischio non solo per l'ecosistema, ma anche per l'uomo, posto all'apice di numerose catene trofiche.

Tra i predatori di vertice, I mammiferi marini, ed in particolare i cetacei, svolgono un ruolo cardine.

Secondo il "Conservation Action Plan for the World's Cetaceans" stilato dal IUCN/SSC Cetacean Specialist Group, l'inquinamento chimico è uno dei rischi principali per queste specie (Reeves et al., 2003). Data l'importanza della conservazione degli ecosistemi marini, l'importanza socio-economica degli stessi nell'area del Mediterraneo e la mancanza di informazioni relative all'argomento, molte ricerche hanno cercato di incrementare le conoscenze specifiche relative all'accumulo di PCBs e metalli pesanti nei cetacei che vivono lungo le coste italiane.

Metalli pesanti

Il termine "metallo pesante" si riferisce a tutti quegli elementi chimici che hanno una densità relativamente alta e che sono tossici a basse concentrazioni. Tra questi il mercurio (Hg), il cadmio (Cd), l'arsenico (As), che in realtà è un metalloide, il cromo (Cr), il tallio (Tl), il piombo (Pb), lo zinco (Zn) e il rame (Cu).

L'inquinamento da metalli è strettamente legato alle attività industriali e all'uso dei combustibili, che causa un incremento della loro mobilitazione a livello ambientale. Questo fenomeno induce un accumulo in atmosfera e l'entrata nelle catene trofiche, con produzione di danni negli organismi viventi.

I delfini sono esposti alla contaminazione da metalli attraverso l'alimento e l'acqua, che rappresentano rispettivamente il 51% e il 18 % dell'assorbimento totale (Gaskin, 1986; Cardellicchio et al., 2000).

I metalli sono composti idrofili che possono legarsi alle proteine con legami polari ed hanno una ridotta affinità per i lipidi (anche

Paese	Fonte	Rilascio di metalli pesanti (mg/anno)		
		Hg	Cd	Pb
Croatia	Misto		23.3	555.1
	Misto		75	315
	Misto	10.1	23	361
	Misto		0.4	11
	Misto		146	150
	Domestico		5.5	1916
Cyprus	Industriale	0.07		0.06
Egypt	Misto		31+	193+
Egypt	Misto	1278	1562	
Israel	Misto	7.3	2600	
	Misto	60	430	1670
Morocco	Misto	0.38	14.66	307.59
Slovenia	Misto		752	5727
	Misto		9.3	90.5
	Domestico		4.26	60.96
Syria	Misto		54	2703
	Misto		85.4	4271
Tunisia	Industriale		0.15	0.6

Tabella 1: concentrazione di metalli pesanti in alcune aree del Mar Mediterraneo; UNEP/WHO,1999 (modificato).

se l'arsenico e le forme organiche del mercurio si dimostrano estremamente lipofili (che). La loro distribuzione nell'organismo è funzione quindi del tipo e della quantità di proteine nei diversi tessuti, in quanto si legano specificatamente ai gruppi sulfidrilici ed idrossilici di queste.

Tutti i metalli si accumulano nell'organismo, causando effetti a breve e lungo termine che differiscono sulla base del metallo considerate. Possono infatti colpire il rene, il sistema nervoso o immunitario, a volte hanno effetti cancerogeni e/o teratogeni.

Questi elementi raggiungono l'ambiente marino principalmente attraverso i fiumi e

l'atmosfera. Il rapporto UNEP (1999) presenta i dati disponibili per l'intera area del Mediterraneo, alcuni dei quali sono riassunti in tabella 1.

Mammiferi marini come animali sentinella e fattori che influenzano la presenza di contaminanti nei cetacei

I mammiferi marini sono buoni indicatori dei cambiamenti ambientali a medio-lungo termine, perché hanno una vita relativamente lunga, sono al vertice delle catene trofiche e infine hanno notevoli riserve di grasso (blubber).

Mentre molte sostanze inerti e lipofile possono depositarsi nel blubber, altre sostanze sono metabolizzate principalmente nei periodi di stress fisiologico come patologia disabilitanti, la gravidanza e la lattazione, le temperature estreme e le situazioni di defedamento.

I delfini in particolare possono rappresentare esempi di varie patologie (virali, neoplastiche, ecc.) che possono colpire altri mammiferi marini più difficili da approcciare a causa delle loro caratteristiche biologiche (animali di grandi dimensioni ad esempio) o per la loro localizzazione nelle acque profonde dei mari aperti o per la loro rarità.

Nei cetacei sono già state identificate grandi quantità di agenti inquinanti, assieme a composti ad azione di interferenza endocrina. La maggior parte delle specie studiate sono quelle che si trovano nelle vicinanze della costa, con l'eccezione del capodoglio (*Physeter macrocephalus*), che è da considerarsi un rappresentante della vita in mari aperti e profondi. In ogni caso molte delle informazioni provengono da animali spiaggiati e non è al momento certo se l'eziologia delle alterazioni endocrine e riproduttive sia effettivamente legata agli inquinanti marini.

Le loro caratteristiche fisiologiche ed anatomiche fanno sì che possano accumulare grandi quantità di contaminanti e possano quindi essere utilizzati come ottimi biomonitor ambientali (Loganathan et al., 1990). Inoltre le differenze nei livelli di contaminazione in funzione del sesso, l'età, della fase riproduttiva e dello stato nutritivo li rende specie ancora più sensibili

Come già accennato precedentemente, azione dei contaminanti sulla salute dei cetacei non è stata ad oggi pienamente compresa; il loro ruolo nel declino di alcune popolazioni è ancora da chiarire, ma si pensa che possano rientrare tra i molteplici fattori che

impattano sulle popolazioni di cetacei, assieme a pesca eccessiva ed attività umane in genere (Das et al., 2002). Si deve anche tenere presente che i mammiferi marini in generale consumano almeno 3 volte più prede (che normalmente contengono elevati livelli di metalli) degli esseri umani, e sono quindi esposti a livelli molto superiori di contaminanti.

Nel presente lavoro sono riportati i dati relative alla quantificazione di metalli pesanti in tessuti di odontoceti spiaggiati lungo le coste dell'Alto Adriatico. Si è inoltre tentato di correlare questi dati con i possibili effetti subcronici e sub letali esercitati da questi contaminanti, a partire da quanto disponibile in letteratura e da dati ottenuti nel nostro laboratorio (dati non pubblicati) relativamente al sistema immunitario, alla capacità riproduttiva e ai livelli tissutali di ormoni tiroidei.

Materiali e metodi

Campionamento

I campioni di cetacei (tursiope, *Tursiops truncatus*, e capodoglio, *Physeter macrocephalus*) sono stati ottenuti da esemplari spiaggiati ritrovati lungo le coste dell'Alto Adriatico (Figura 1). I campioni di tessuto sono stati raccolti durante le necroscopie ed inviati al Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Patologia Animale della Facoltà di Medicina Veterinaria dell'Università di Bologna, dove sono stati processati per l'analisi dei metalli. Le necroscopie degli animali sono state eseguite seguendo protocolli internazionali standardizzati, descritti da Geraci e Lounsbury (1993). In tutti i casi sono stati raccolti i dati biometrici e le informazioni sullo stato fisico e di nutrizione, su eventuali lesioni provocate dall'attacco di altri animali o dall'uomo.



Fig. 1 – Area di campionamento

I tessuti campionati per le analisi tossicologiche sono stati: blubber, fegato, rene, muscolo, cuore, pelle, melone e muscolo intestinale.

Analisi dei metalli pesanti

I campioni di tessuto sono stati raccolti solo nel caso in cui il loro stato di conservazione fosse accettabile, per cui non sempre è stato possibile raccogliere tutti i campioni da un singolo animale. Conseguentemente sono stati raccolti 10 campioni di muscolo, 9 di fegato, 6 di rene e blubber, 4 di melone, 2 di cuore, 1 di polmone, muscolo intestinale e pelle da 10 tursiopi e 1 capodoglio (Tabella 2).

I campioni sono stati liofilizzati, è stato calcolato il contenuto di acqua e successivamente sono stati conservati a temperatu-

re ambiente in contenitori sigillati fino alle analisi.

Aliquote di 0.3 g sono stati sottoposti a digestione in microonde ed analizzati con una tecnica ad Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry (ICP-MS) per la quantificazione di Be, Al, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Hg, As, Se, Cd, Sn, Sb, Tl e Pb. I risultati analitici sono espresso come mg/kg (ppm) peso secco (d.w.).

Analisi statistica

Per l'analisi statistica si è prima valutata la distribuzione normale dei dati, usando il test Shapiro-Wilk.

Data la distribuzione non normale dei dati, questi sono stati log-transformati ed è stata applicata un'analisi non parametrica, con il test di Kruskal-Wallis per l'analisi della va-

Specie	Tessuto								
	Fegato	Muscolo	Rene	Polmone	Pelle	Muscolo intestinale	Blubber	Melone	Cuore
Tursiope	9	9	6	1	1		5	4	2
Capodoglio		1				1	1		

Tabella 2: Numero di tessuti raccolti per specie considerata.

rianza e con il test di Spearman per dati aggregati per le correlazioni. La significatività statistica è stata settata a $p < 0.05$.

L'analisi statistica è stata effettuata usando il programma STATISTICA 6.0® (StatSoft Italia s.r.l.). Ogniqualevolta un dato analitico fosse al di sotto del limite di quantificazione del metodo (LOD) il valore era sostituito, per i soli fini statistici, con la metà del LOD stesso (Travis and Land, 1990).

Risultati e discussione

A causa del ridotto numero di soggetti e di campioni per ciascuna specie e tessuto (tabella 2) non sono stati presi in considerazione né il sesso né l'età dei soggetti (quest'ultima estremamente difficile da ottenere). L'analisi statistica è stata quindi effettuata solo per specie ed organo. I risultati analitici relative alla quantificazione dei metalli sono riportati, come media \pm e.s., in tabella 3. In tabella risultano mancanti alcuni metalli, in particolare Be, Co, Ni, Sb e Tl, che non sono riportati in quanto per Be, Co, Sb e Tl i risultati analitici erano sempre al di sotto del LOD, mentre per il Ni il controllo della qualità dei risultati, effettuata tramite l'analisi di materiale di riferimento, ha mostrato un coefficiente di recupero del 158% che ha reso i risultati affidabili. Va inoltre notato come, inaspettatamente, altri metalli, riconosciuti come inquinanti comuni

dell'ambiente marino, non siano riscontrati in percentuali elevate nei campioni, anche in quelli noti per essere sito di accumulazione per gli stessi (rene, fegato).

Infatti il Pb è presente al livelli $>LOD$ solo in 6 campioni su 39 (15%) e il cadmio in 7 su 39 (18%). Questi dati differiscono notevolmente da quanto riportato in letteratura, in particolare per il Cd. Il metalli è infatti generalmente reperito ad elevate concentrazioni (a livello di decine di ppm) nelle specie acquatiche, in particolare in quelle che si nutrono di cefalopodi quali le specie oggetto di questo studio, ed in particolare nel rene. Nel presente studio è stato invece reperito solo in 2 reni e 2 fegati e muscoli, a livelli abbastanza bassi.

Nonostante queste osservazioni, i livelli più elevati di cadmio sono stati reperiti, in accordo con la sua cinetica, nel rene, quindi nel fegato e nel muscolo, mentre in nessuno degli altri tessuti è stato possibile quantificarlo.

Analogamente, il Pb è presente in pochi tessuti che generalmente NON sono considerate target di accumulo, come il blubber o il cuore; in due casi solamente è stato reperito nel fegato e nel rene. Il dato è di difficile interpretazione e non sono note a livello scientifico patologie che possano indurre una simile distribuzione; inoltre al momento della necropsia non sono state rilevate lesioni che possano rendersi responsabili di simili reperti. Solo in due casi, in cui i

soggetti erano chiaramente molto giovani, i bassi livelli osservati possono essere messi in relazione con la giovane età e quindi con il ridotto accumulo. In ogni caso il range di concentrazioni osservato si è dimostrato piuttosto ridotto (0.05-0.38 mg/kg d.w.).

L'arsenico è invece l'elemento che è reperito nella quasi totalità dei campioni (36/39; 92%) a livelli superiori al ppm, con la sola eccezione del melone, nel quale i valori medi sono di $0,22 \pm 0,14$ mg/kg d.w. In due campioni di tursiope (un fegato, 6,1 mg/kg d.w., e un rene, 5,5 mg/kg d.w.) le concentrazioni osservate erano sufficientemente alte da far pensare all'insorgenza di sintomatologia tossica o di lesioni. È interessante notare che le concentrazioni epatiche più elevate sono state osservate in un individuo che presentava livelli oltre le soglie tossiche anche di mercurio, ferro, rame, zinco e selenio. Questo è indicativo in un metabolismo alterato che causa un'alterazione del funzionamento epatico ed un accumulo di metalli, cui si potrebbe associare una lesione a livello renale che altera anche la loro eliminazione. Sfortunatamente, non erano disponibili del soggetto altri organi, per cui non è stato possibile verificare questa eventualità.

Di notevole interesse sono i dati relativi al mercurio. Nella quasi totalità dei casi e indipendentemente dal tessuto il metallo era infatti presente a livelli superiori al mg/kg (tabella 3). In 5 animali i livelli tissutali in rene, fegato o muscolo erano superiori a quelle che sono definite come soglie tossiche per il metallo, pari a 20-30 mg/kg d.w. nel fegato, considerato organo marker per la quantificazione del Hg (Yang et al., 2007). È da sottolineare come nel fegato di un soggetto adulto sia stata riscontrata una concentrazione di 2837 mg/kg, riportata per altro anche da Yang et al. (2007) in *Phocoenoides dalli* del Giappone.

Indubbiamente simili concentrazioni, raramente osservate nel Mediterraneo, sono indicative di una chiara intossicazione, che può aver causato la morte dell'animale. Sfortunatamente, come già accennato precedentemente, è stato possibile raccogliere solo campioni di fegato del soggetto, e non è quindi possibile fare ulteriori speculazioni sullo stato di contaminazione/intossicazione dell'animale.

I livelli di mercurio si sono dimostrati ben correlati con quelli di selenio ($p < 0.05$; $r=0,711$).

Quest'ultimo è stato reperito in quasi tutti i tessuti considerati (tabella 3) a livelli superiori ad 1 mg/kg, raggiungendo le concentrazioni maggiori nel fegato. Nessun campione presentava livelli superiori alla soglia tossica e, in accordo con l'alto valore di correlazione, i livelli più elevati si incontravano nei campioni con livelli di mercurio più alti.

Il cromo è presente negli organi considerati in maniera omogenea, e si attesta nel range 0.15-1.12 mg/kg d.w. (valori medi). Le concentrazioni in tutti i campioni sono generalmente basse e la variabilità è molto limitata. Ciononostante, in un muscolo è stata reperita una concentrazione di 4.33 mg/kg d.w., superiore alla soglia di 4 mg/kg d.w. considerata come indicativa di un'esposizione a livelli elevati di metallo. Ciononostante, poiché solo un tessuto su 4 provenienti dallo stesso esemplare era di poco al di sopra di questa soglia, il dato deve essere considerato più come un artefatto, forse legato allo stato di conservazione dell'animale, che come un vero episodio di contaminazione. In quanto metalli essenziali, il rame, il ferro e lo zinco presentano distribuzioni uniformi in tutti i tessuti di entrambe le specie considerate, e non raggiungono mai i livelli tossici (44 mg/kg d.w. per il rame, 250 $\mu\text{mol/g}$ d.w. per il ferro e 274 mg/kg d.w. nel rene e 465 mg/kg d.w. nel fegato per lo zinco).

Metallo	Media \pm e.s. (mg/kg d.w.) Minimo-massimo									
	Fegato	Muscolo	Rene	Polmone	Pelle	Muscolo intestinale	Blubber	Melone	Cuore	
Cr	0.61 \pm 0.23 <LOD-1.79	0.62 \pm 0.47 <LOD-4.33	0.16 \pm 0.10 <LOD-0.51	0.21 \pm 0.21 <LOD-0.41	0.57	1.12	0.53 \pm 0.19 <LOD-1.04	0.42 \pm 0.17 <LOD-0.73	0.15 \pm 0.15 <LOD-0.30	
Fe	2117 \pm 1429* 204-13540	720 \pm 253 192-2645	441 \pm 68 268-642	602 \pm 156 446-758	26.15	301	36.30 \pm 15.38 9.96-96.57	99.85 \pm 30.79 7.77-135.84	461 \pm 49 412-510	
Cu	23.50 \pm 9.55 4.72-88.03	15.72 \pm 7.47 4.80-74.23	25.11 \pm 7.16 12.89-59.88	7.17 \pm 1.11 6.07-8.29	3.53	3.49	5.63 \pm 3.98 0.97-21.47	1.17 \pm 0.12 0.85-1.37	12.7 \pm 0.72 12.03-13.48	
Zn	203 \pm 33.15 106-345	111 \pm 22.94 55.30-267	163 \pm 25.44 93.22-269	122 \pm 27.72 94.11-149	556	97	39.86 \pm 20.45 4.91-117.97	15.37 \pm 4.63 3.93-24.16	104 \pm 14.80 89.11-119	
Hg	319 \pm 314* 1.30-2837	13.79 \pm 6.95 1.29-54.14	22.58 \pm 11.20 2.68-59.24	1.82 \pm 0.19 1.63-2.01	9.46	7.76	2.28 \pm 0.80 0.17-4.17	1.64 \pm 0.77 0.21-3.78	2.35 \pm 0.04 2.31-2.39	
As	2.46 \pm 0.55 0.71-6.06	1.86 \pm 0.27 0.57-2.78	2.71 \pm 0.64 1.37-5.47	3.22 \pm 0.29 2.93-3.51	1.45	<LOD	1.00 \pm 0.34 0.39-2.29	0.22 \pm 0.14 <LOD-0.58	3.26 \pm 0.11 3.16-3.37	
Se	143 \pm 138* 1.71-1245	7.82 \pm 3.14 1.09-29.95	16.23 \pm 5.81 4.23-35.93	3.93 \pm 0.33 3.60-4.25	44.72	8.41	1.64 \pm 0.69 <LOD-3.39	1.63 \pm 0.51 0.51-2.99	2.03 \pm 0.02 2.00-2.04	
Cd	0.37 \pm 0.26 <LOD-2.24	0.01 \pm 0.07 <LOD-0.59	6.52 \pm 5.91 <LOD-36.02	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	
Pb	0.21 \pm 0.21 <LOD-1.86	0.15 \pm 0.10 <LOD-0.81	0.05 \pm 0.05 <LOD-0.31	<LOD	<LOD	<LOD	0.14 \pm 0.14 <LOD-0.69	<LOD	0.38 \pm 0.38 <LOD-0.77	

*media falsata dal valore massimo. Medie corrette: Fe 689.72 \pm 86.07; Hg 5.21 \pm 1.63; Se 5.32 \pm 1.41.

Tabella 3: Media \pm e.s. (mg/kg d.w.), minimo e massimo rilevati nei cetacei campionati nell'Alto Adriatico (dati aggregati).

Va comunque sottolineato come in un rene e un muscolo di due differenti tursiopi i livelli di rame superano lo soglia di 44 mg/kg; al pari del Cr però il reale significato tossicologico di un simile reperto è incerto, in quanto i livelli in tutti gli altri tessuti di entrambi gli esemplari rimangono ben al di sotto dei livelli indicativi di sovraesposizione. Una valutazione dei dati ottenuti in funzione della specie evidenzia come il capodoglio presenti livelli tissutali di As inferiori rispetto al valore medio osservato nei tursiopi (2.3 mg/kg nel muscolo del tursiope vs. 0.6 mg/kg nel capodoglio; 1,15 mg/kg nel blubber del tursiope vs. 0.4 mg/kg nel capodoglio). Le differenze nelle abitudini di vita e in particolare nell'alimentazione (il capodoglio si nutre di cefalopodi e il tursiope prevalentemente di pesce) possono spiegare le differenze osservate (tabella 4; figura 2). Differenze simili, spiegabili sempre con differenze nell'alimentazione, sono state trovate per il cadmio, il mercurio e il rame: il capodoglio infatti presenta livelli superiori di cadmio nel muscolo, e i cefalopodi di cui si nutre sono organismi noti per contribuire fortemente al contenuto di cadmio nei cetacei. Anche il rame e il mercurio nel blubber sono più elevati nel capodoglio che nei tursiopi. Il dato relativo al mercurio può nuovamente essere spiegato con l'alimentazione, mentre quello del rame potreb-

be essere legato a differenti composizioni biochimiche del blubber nelle due specie, come dimostrato da un diverso punto di fusione e un contenuto lipidico differente (Zaccaroni, dati non pubblicati) (Fig. 2). Infine il ferro è più elevato sia nel muscolo che nel blubber del capodoglio. Ciò può essere legato al fatto che un nuotatore di profondità (può raggiungere profondità superiori a 500 m) e per lungo tempo (fino a 40 minuti) come il capodoglio necessita di maggiori quantità di mioglobina (figura 2). Una comparazione con i dati disponibili in bibliografia evidenzia come le concentrazioni sia dei metalli essenziali che di quelli tossici si inseriscano nei range presentati da altri studi effettuati nel Mediterraneo o poco al di sopra (Sanpera et al., 1996; Holsbeek et al., 1998; Roditi-Elasar et al., 2002; Ruelas and Pàez-Osuna, 2002a, b; Frodello et al., 2002b; Shoham-Frider, 2002; De Luna and Rosales-Hoz, 2004; Hung et al., 2007). L'analisi statistica non ha evidenziato correlazioni tra i metalli e gli organi analizzati o differenze significative tra metalli (analisi non parametrica della varianza di Kruskal-Wallis), ad indicare una distribuzione generalizzata dei metalli nei tessuti ($p > 0,05$). I dati relativi ai livelli di contaminanti nei tessuti sono stati quindi aggregati per la successiva analisi statistica. Non è stata effettuata un'analisi statistica per eventuali

Specie	Organo	Cr	As	Se	Cd	Pb	Hg	Cu	Zn	Fe
Tursiope	Muscolo	1.66 ± 1.33	2.0 ± 0.25	7.77 ± 3.56	0.31	0.57	14.72 ± 7.82	15.17 ± 8.45	110.24 ± 25.98	479.56 ± 89.02
	Blubber	0.53 ± 0.16	1.16 ± 0.39	1.61 ± 0.81	<LOD	0.69	1.82 ± 0.84	6.26 ± 5.07	39.36 ± 26.402	21.23 ± 3.94
Capodoglio	Muscolo	0.6	0.6	8.2	0.6	0.8	6.39	20.1	120.4	2646
	Blubber	1.0	0.4	3.4	<LOD	<LOD	4.14	3.1	41.9	97

Tabella 4: Media ± e.s. (mg/kg d.w.) dei metalli studiati, comparata nei due soli tessuti disponibili sia in tursiope che in capodoglio.

differenze tra specie relativamente al contenuto di metalli, in quanto erano disponibili dati solo per un capodoglio.

L'analisi di correlazione (Spearman's ranks test) ha invece evidenziato correlazioni positive tra i singoli metalli, in particolare tra i metalli essenziali (Zn/Se, Zn/Fe, Zn/Cu, Fe/

Cu, Fe/Se, Cu/Se, Cu/Mn). Queste correlazioni possono essere spiegate con il ruolo metabolico di questi elementi e con le interazioni che esistono tra gli stessi relativamente al metabolismo e all'assorbimento (Law et al., 1991, 1992). Le correlazioni negative osservate tra Cd e Mn, Fe, Cu, Zn e Se non

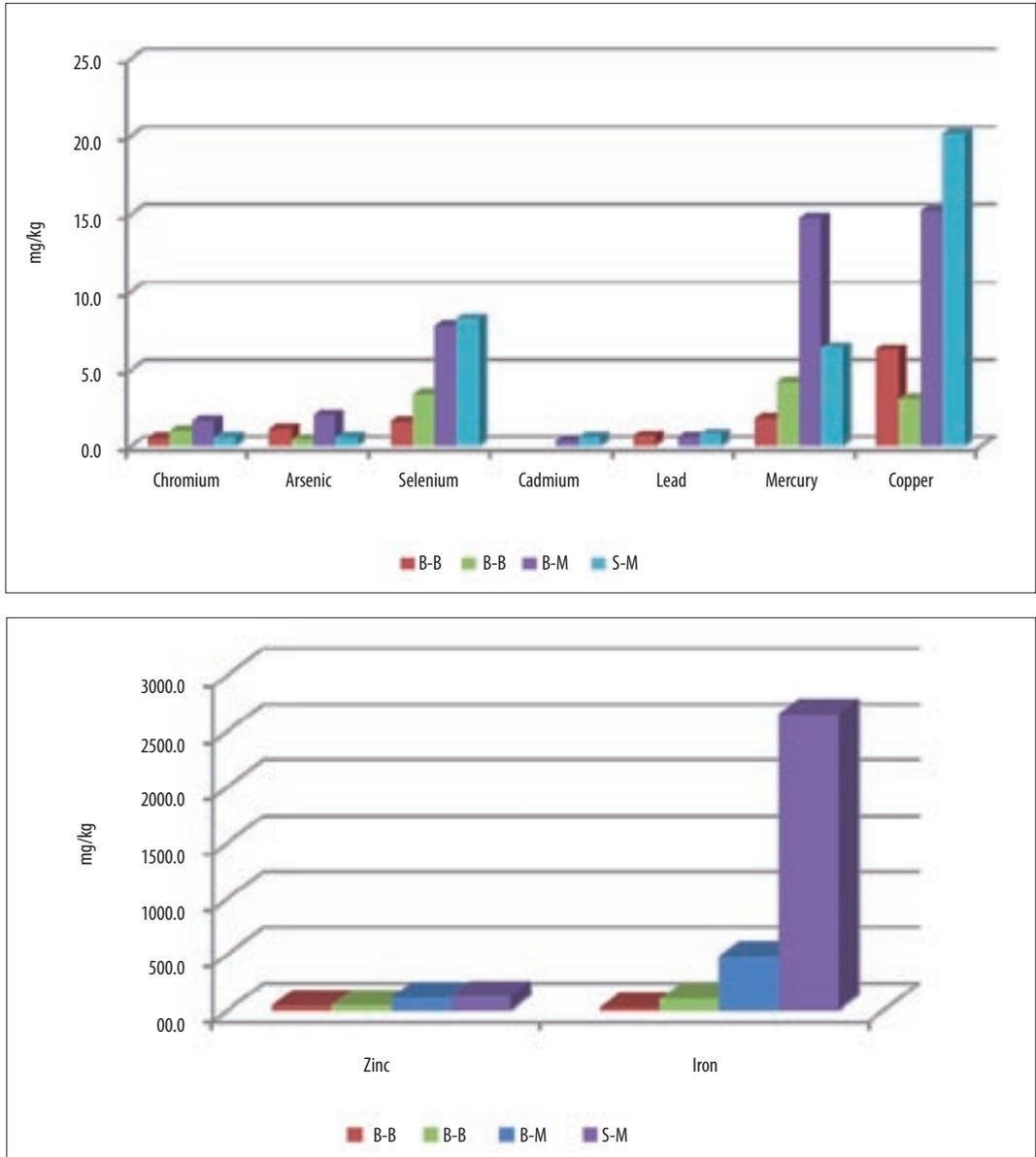


Figura 2- Concentrazione di metalli pesanti nel blubber e nel muscolo dei tursiopi e del capodoglio; B-B: blubber di tursiopo; B-M: muscolo di tursiopo; S-B: blubber di capodoglio; S-M: muscolo di capodoglio.

sono da considerare realistiche, a causa del ridotto numero di campioni che presentano livelli di cadmio superiori al LOD.

Potenziali effetti subcronici

Il Pb ha importanti effetti tossici sul sistema riproduttivo ed è già stata dimostrata da tempo la sensibilità dei gameti maschili e femminili (Stowe and Goyer, 1971). Concentrazioni ematiche di Pb inferiori a 40 µg/dl e testicolari nel range di 0.1-5.3 µg/g f.w., equivalenti a 0.4-11.2 µg/g d.w. si sono dimostrate in grado di indurre un decremento nella conta e nella motilità spermatica (Assenato et al., 1986; Apostoli et al., 1998). In relazione con la durata dell'esposizione è stata osservata una riduzione della funzionalità endocrina testicolare (Rodamilans et al., 1988).

Al fine di una comparazione degli studi nell'uomo (focalizzati sul carico di Pb nel tessuto) con quelli da noi ottenuti, non abbiamo considerato fegato, muscolo e rene come organi target, a causa della loro elevata capacità di accumulare il metallo. Abbiamo invece considerato tessuti come blubber, polmone e melone quali tessuti comparabili, in funzione della loro ridotta capacità di accumulo, al pari di quanto si osserva nel testicolo. Nei cetacei il piombo raggiunge in un solo caso concentrazioni tali da essere considerate pericolose per l'attività riproduttiva (0.7 µg/g d.w. nel blubber). Ciononostante, non è stato rilevato Pb nel muscolo e nella pelle dello stesso animale, quindi il significato tossicologico del dato rimane dubbio. Va in ogni caso tenuto presente un eventuale effetto avverso sulla capacità riproduttiva dei tursiopi, anche se non è stato possibile verificare l'insorgenza di una riduzione di fertilità.

Gli effetti tossici del cadmio sull'attività riproduttiva possono essere sia diretti, con danni a carico degli organi riproduttivi e delle strutture accessorie, che indiretti, con

alterazioni dell'asse ipotalamo-ipofisi-gonade (Goering et al., 1995).

Questi effetti sono molto più evidenti nel maschio, in cui si osservano lesioni del letto vascolare, con edema delle cellule interstiziali, ridotta produzione di androgeni nelle cellule del Leydig, necrosi delle cellule di Sertoli, inibizione della spermatogenesi e riduzione della motilità spermatica che producono sterilità (Parizek, 1957; Meek, 1959; Gunn et al., 1968a, b; Samarawickrama, 1979; Wong and Klaassen, 1980; Dwivedi, 1983). Nella femmina è possibile riscontrare necrosi placentale durante la gravidanza, a causa di un accumulo di cadmio in placenta (che quindi protegge da una parte il feto), ricca di proteine inducibili simili alla metallothioneina (Parizek and Zahox, 1956; Girod and Clavineau, 1964; Lohiya et al., 1976; Kotsonis and Klaassen, 1977; Waalkes et al., 1984; Goyer and Cherian, 1992; Nordberg et al., 1992). Alla base delle alterazioni di questo asse vi è un'accumulo di metalli nell'ipofisi che altera la dinamica delle gonadotropine con riduzione della produzione di estrogeni e conseguente alterazione del normale sviluppo puberale degli individui (Der et al., 1977; Rehm and Waalkes, 1988; Parizek et al., 1968). Si è anche osservato che il cadmio può interferire con l'espressione genica dei recettori per gli estrogeni (ER α) nel fegato, e per quelli per la GnRH nel cervello dei pesci immaturi (Stoica et al., 2000; Vetillard, 2005). Il cadmio può anche indurre effetti estrogeno-simili, come un incremento del peso dell'utero, un precoce sviluppo della ghiandola mammaria e la proliferazione dell'endometrio con induzione dei recettori per il progesterone (Johnson, 2003). Infine l'esposizione a cadmio durante la gravidanza o nelle sue fasi iniziali riduce la percentuale di impianti embrionali e induce notevoli effetti teratogeni (Giavini et al., 1980).

Apparentemente la soglia per l'attivazione dei recettori ER α sembra essere 0.1 ng/g f.w., equivalente a 0.4 ng/g d.w. (Stoica et al., 2000). Quando rilevato, il Cd si riscontra nei tessuti dei cetacei di questo studio sempre al di sopra di questa soglia, quindi si può ipotizzare un potenziale effetto estrogeno-simile in tutti i soggetti. Ciononostante, il fatto che l'attivazione dei recettori ER α sia stata valutata *in vitro* fa sì che la soglia non possa essere considerata come sicura, in quanto la risposta dei sistemi *in vitro* può essere molto diversa da quella dell'intero organismo. In uno studio più recente Canapa et al. (2007) valutando l'effetto dell'esposizione al cadmio sull'espressione genetica della vitellogenina (VTG), marcatore utilizzato per la valutazione dell'effetto estrogenico, osservarono che livelli tissutali pari a 17.1 ± 9.2 e 21.3 ± 4.5 $\mu\text{g/g}$ d.w. non erano in grado di indurre la VTG in *Trematomus bernacchii*. Il dato è quindi apparentemente opposto a quello di Stoica et al. (2000) ed ha portato a considerare che possano non esserci effetti avversi nei cetacei considerate, in quanto anche le concentrazioni più elevate di cadmio osservate sono ben al di sotto delle concentrazioni di Canapa et al. (2007). Ciononostante il cadmio è considerato come un potente xenoestrogeno (Henson and Chedrese, 2004; Sharma and Patino, 2009) e se teniamo in considerazione i valori definiti da Stoica et al. (2000) e da Johnson et al. (2003), che riferiscono di effetti estrogenici a concentrazioni molto basse (10-2 pg/g tessuto per Johnson), in ogni caso bisogna porre attenzione alla salute riproduttiva dei cetacei.

Un altro target potenziale dei metalli pesanti è la tiroide. Abbiamo quindi comparato i dati relativi al monitoraggio dei metalli pesanti con quelli dei livelli di ormoni tiroidei nei tessuti degli stessi animali, ottenuti nei

nostri laboratori (Zaccaroni et al., 2008). Le eventuali correlazioni tra metalli e ormoni è stata valutata con il rank test di Spearman sui dati aggregati.

La valutazione di queste correlazioni sottolinea come vi siano correlazioni positive ($p < 0.05$) tra ormoni tiroidei e cromo ($r = 0.45$), zinco ($r = 0.61$) e rame ($r = 0.51$). Queste correlazioni, che sono state riscontrate per la prima volta in questo studio, sono in accordo, per quanto riguarda Cu e Zn, con quanto osservato nell'uomo, poiché questi metalli possono regolare la funzione tiroidea (Zhang et al., 2004; Arreola et al., 1993; Olivieri et al., 1996; Liu et al., 2001; Yoshida, 1996), stimolando la produzione di T3 e T4. Non sembrano esserci informazioni relative all'effetto del cromo sull'attività tiroidea.

Il ferro è in grado di indurre alterazioni a livello del sistema immunitario, aumentando ad esempio la virulenza batterica saturando la transferrina sierica, proteina che agisce sull'attività delle globuline sieriche β_2 e γ che alterano il metabolismo batterico (Bullen and Rogers, 1969). Il ferro si può anche accumulare nei lisosomi dei granulociti polimorfo nucleati e diminuire le proprietà antibatteriche di queste cellule. Gli effetti immunosoppressivi sono determinate dall'accumulo di ferro nei lisosomi dei granulociti, a causa della sua alta affinità per le glicoproteine acide di questi granuli, per la lattoferrina (Baggiolini et al., 1970) e per le proteine alcaline (Zeya and Spitznagel, 1968); il legame di queste proteine con il ferro fa perdere loro l'attività battericida. Nessun soggetto presentava livelli tossici di ferro (pari a 2 mg/kg d.w. nel fegato), o i livelli richiesti per l'induzione di una riduzione nella proliferazione delle cellule formanti anticorpi (Ban et al., 1995).

Lo zinco è ugualmente implicato nella modulazione del sistema immunitario, in quan-

to sue carenze producono una riduzione della risposta cellulo-mediata, riducendo l'intensità della reazione di ipersensibilità ritardata e una maggior sensibilità alle infezioni e alle patologie sia nell'uomo che negli animali (Adams, 1999). Altre funzioni biologiche di questo metallo coinvolgono sempre l'immunità cellulo-mediata e il metabolismo dei radicali liberi.

I livelli di zinco osservati rientrano nel range di concentrazioni in grado di alterare la risposta immunitaria nei lombrichi (Fugère et al., 1996). Concentrazioni simili sono anche in grado di indurre le metallotioneine nei leucociti di foca grigia; tali proteine svolgono un importante ruolo nella riduzione della risposta umorale e nella regolazione della quiescenza e dell'attivazione del sistema immunitario (Pillet et al., 2002; Lynes et al., 1993). Conseguentemente, anche se non si evidenzia tossicità acuta, si possono ipotizzare alcune alterazioni del sistema immunitario per lo meno in alcuni degli individui considerati.

I livelli di metalli osservati in alcuni soggetti sono indicative di effetto immunotossico, sulla base delle soglie tossiche identificate da Camara Pellissò et al. (2008) per quanto riguarda la tossicità cellulare (20 mg/kg d.w. Cd), l'aumento dell'apoptosi (10 mg/kg d.w. Cd), la riduzione della proliferazione linfocitaria (10 mg/kg for the Cd) e dell'attività fagocitaria (10 mg/kg d.w. Cd, 50 mg/kg d.w. Al). In un tursiope oggetto di studio sono stati individuati 78.8 mg/kg d.w. di Al a livello muscolare e 36 mg/kg di Cd a livello renale. È quindi probabile che il soggetto fosse interessato da tutti i fenomeni tossici individuati da Camara Pellissò et al. (2008). In altri 3 soggetti, capodoglio incluso, i livelli di Al era-

no sufficientemente alti da indurre una riduzione dell'attività fagocitaria (52, 94.3 e 341.3 mg/kg rispettivamente). Piombo e cromo, gli altri due metalli studiati da Camara Pellissò et al. (2008), non superano mai le rispettive soglie tossiche.

Pe quanto riguarda il mercurio, le concentrazioni osservate in quasi tutti i casi sono superiori a quelle definite da Camara Pellissò et al. (2008) come immunotossiche. In particolare in tutti si soggetti si può ritenere probabile un aumento dell'apoptosi e una riduzione della proliferazione linfocitaria, con conseguente riduzione della capacità di difesa dagli agenti patogeni. 8 campioni, provenienti da 5 tursiopi e dal capodoglio, presentavano livelli di Hg superiori a 5 mg/kg d.w., soglia identificata per la riduzione dell'attività fagocitaria, mentre 6 soggetti mostravano livelli sufficientemente alti da far ritenere probabile la presenza di tutte e quattro le alterazioni immunitarie considerate.

Conclusioni

I risultati ottenuti nel presente studio permettono di definire i livelli di contaminazione da metalli pesanti in cetacei dell'Adriatico settentrionale e di valutarne gli eventuali effetti tossici, in particolare a livelli di sistema riproduttivo, di funzionalità tiroidea e di sistema immunitario. Le risultanze analitiche ci portano a ritenere che almeno in 4 casi gli animali potessero soffrire di fenomeni di citotossicità linfocitaria, aumento dell'apoptosi e riduzione della proliferazione linfocitaria e dell'attività fagocitaria. È quindi ipotizzabile una maggiore sensibilità di questi soggetti a patologie di natura infettiva.

References

- Adams R.H., *Farmacologia e terapeutica veterinaria*. EMSI (Ed.), Roma (1999).
- Arreola F., Paniagua R., Pérez A., Diaz Ben-sussen S., Junco E., Villalpando S., Exaire E., *Horm. Metab. Res.* 25, 539 (1993).
- Baggiolini M., de Duve C., Masson P.L., Her-emans J.F., *J. Exp. Med.*, 131 (1970).
- Ban M., Hettich D., Cavalier C., *Toxicol. Lett.* 81, 183 (1995).
- Bullen J.J., Rogers H.K., *Nature*, 224, 380 (1969).
- Camara Pellissò S., Munoz M.J., Carballo M., Sanchez-Vizcaino J.M., *Vet. Immunol.* 121 (3-4): 189 (2008)
- Canapa A., Barucca M., Gorbi S., Benedetti M., Zucchi S., Biscotti M.A., Olmo E., Nigro M., Regoli F., *Chemosphere* 66, 1270 (2007).
- Cardellicchio N., Giandomenico S., Ragone P., Di Leo A., *Mar. Environ. Res.*, 49, 55 (2000).
- De Luna C.J., Rosales-Hoz L., *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 72, 460 (2004).
- Der R., Fahim Z., Yousef M., Fahim M., *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.*, 16, 485 (1977).
- Dwivedi C., *Environ. Contam. Toxicol.*, 12, 151 (1983).
- Frodello J.P., Viale D., Marchand B., *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 69, 662 (2002b).
- Fugère N., Brousseau P., Krystyniak K., Coderre D., Fournier M., *Toxicology* 109, 157 (1996).
- Gaskin D.E., *Kidney and water metabolism*. In: M.M. Bryden, R. Harrison, (Eds), *Research on dolphins*. Clarendon Press, Oxford (1986), pp129-148.
- Geraci J.R., Lounsbury V.J., *Marine Mammals Ashore. A Field Guide for Strandings*. Galveston, Texas (1993).
- Giavini E., Prati M., Vismara C., *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 25, 702 (1980).
- Girod C., Chauvineau A., *Nouvelles observations concernant l'influence du chlorure de cadmium sur le testicule du Singe Macacus irus*. F. Cuv. C. R. Soc. Biol., Paris (1964).
- Goering P.L., Waalkes M.P., Klaasen C.D., *Toxicology of cadmium*. In: *Toxicology of metals, Biochemical Aspects*. Goyer, R.A. e Cherian, M.G. Eds., Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, London, Paris, Tokyo, Hong Kong, Barcellona, Budapest, (1995).
- Goyer RA., Cherian M.G., *IARC Sci. Publ.* 118, 239 (1992).
- Gunn S.A., Gould T.C., Anderson W.A.D., *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 128, 591 (1968a).
- Gunn S.A., Gould T.C., Anderson W.A.D., *J. Reprod. Fert.* 15, 65 (1968b).
- Henson C.M., Chedrese J.P., *Exp. Biol. Med.* 229, 383 (2004).
- Holsbeek L., Siebert U., Joiris C.R., *Sci. Tot. Envir.* 217, 241 (1998).
- Hung C.L.H., Lau R.K.F., Lam J.C.W., Jefferson T.A., Hung S.K., Lam M.H.W., Lam P.K.S., *Chemosphere*, 66, 1175 (2007).
- Johnson M.D., Kenney N., Stoica A., Hilakivi-Clarke L., Singh B., Chepko G., Clarke R., Sholler P.F., Lirio A.A., Foss C., Reiter R., Trock B., Paik S., Martin M.B., *Nat. Med.* 9, 1081 (2003).
- Kotsonis F.N., Klaassen C.D., *Appl. Pharmacol.* 41, 667 (1977).
- Law R.J., Fileman C.F., Hopkins A.D., Baker J.R., Harwood J., Jackson D.B., Kennedy S., Martin A.R., R.J. Morris, *Mar. Poll. Bull.* 22, 183 (1991).
- Liu N., Liu P., Xu Q., Zhu L., Zhao Z., Wang Z., Li Y., Feng W.E., Zhu L., *Biol. Tr. Elem. Res.* 84, 37 (2001).
- Loganathan B.G., Tanabe S., Tanaka H., Watanabe S., Miyazaki N., Amano M., Tatsukawa R., *Mar. Poll. Bull.* 21, 435 (1990).
- Lohiya N.K., Arya M., Shivapuri V.S., *Acta. Eur. Fertil.* 7, 339 (1976).

- Lynes M.A., Borghesi L.A., Youn J., Olson E.A., *Toxicology* 85, 161 (1993).
- Meek E.S., *Br. J. Exp. Pathol.* 40, 503 (1959).
- Nordberg G.F., Herber R.F.M., Alessio L., Cadmium in the Human Environment in press (1992). R.A. Goyer, M.G. Cherian, "Role of methallothionein in human placenta and rats exposed to cadmium". IARC, Lyon, pp239
- Olivieri O., Girelli D., Stanzial A.M., Rossi L., Bassi A., Corrocher R., *Biol. Tr. Elem. Res.* 51, 31 (1996).
- Parizek J., *J. Endocrinol.* 15, 56 (1957).
- Parizek J., Benes I., Kalouskova J., Ostadalo-va I., Lener J., Babicky A., Benes J., *Inter Union Physiol Sci Proc* 7 (1968)
- Parizek J., Zahox Z., *Nature*, 177, 1036 (1956).
- Pillet S., Fournier M., Measures L.N., Bouquegneau J.-M., Cyr D.G., *Tox. Appl. Pharm.* 185, 207 (2002).
- Reeves R.R., Smith B.D., Crespo E.A., Notarbartolo di Sciarra G., Dolphins, Whales and Porpoises. IUCN7SSC Cetacean Specialist Group (2003) pp139.
- Rehm S., Waalkes M.P., *Appl. Toxicol.* 10, 635 (1988).
- Rodamilans M., Martinez-Osaba M.J., To-Figueras J., Rivera F., Torra M., Pérez P., Corbella J., *Hum. Toxicol.* 7, 125 (1988).
- Roditi-Elasar M., Kerem D., Hornung H., Kress N., Shoham-Frider E., Goffman O., Spanier E., *Mar. Poll. Bull.* 46, 503 (2003).
- Ruelas J.R., Paez-Osuna F., *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 69, 408 (2002a).
- Ruelas-Inzunza J., Paez-Osuna F., *Environ. Int.* 28, 325 (2002b).
- Samarawickrama G.P., Biological effects of cadmium in mammals. In: *The Chemistry, Biochemistry And Biology of Cadmium*. M. Webb Ed, Elsevier/North-Holland, New York, p. 341. (1979).
- Sanpera C., Gonzadez M., Jover L., *Environ. Poll.* 91, 299 (1996).
- Sharma B., Patino R., *Chemosphere* 76, 1048 (2009).
- Shoham-Fridera E., Amielb S., Roditi-Elasarb M., Kress N., *Sci. Tot. Environ.* 295, 157 (2002).
- Stoica A., Katzenellenbogen B.S., Martin M.B., *Mol. Endocrinol.* 14, 545 (2000).
- Stowe H.D., Goyer R.A., *Fertil. Steril.* 22, 755 (1971).
- Travis C.C., Land M.L., *Environ. Sci. Tech.* 24, 961 (1990).
- UNEP/WHO, MAP Technical Reports 124, 63 (1999).
- Vetillard A., Bailhache T., *Biol. Repr.* 72, 119 (2005)
- Waalkes M.P., Poirier L.A., *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 75, 539 (1984).
- Wong K.L., Klaassen C.D., *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 55, 456 (1980).
- Yang J., Takashi K., Tanabe S., Miyazaki N., *Environ. Poll.* 148, 669 (2007).
- Yoshida K., *Tohoku J. Exp. Med.* 178, 345 (1996).
- Zaccaroni A., Parmeggiani A., Limor S., Scarravelli D., Preliminary report on thyroid hormone levels in tissues of stranded cetaceans. IAAAM PROCEEDINGS 2008, 39, 90 – 92. 39th Annual Conf., International Association for Aquatic Animal Medicine, 39, May 2008 (Pomezia, Italy) pp90-92.
- Zeya H.I., Spitznagel J.K., *J. Exp. Med.* 127, 927 (1968).
- Zhang F., Liu N., Wang X., Zhu L., Chai Z., *Biol. Tr. Elem. Res.* 97, 125 (2004).

3. Andamento di metalli pesanti in megavertebrati plantofagi dell'Alto Adriatico

di Annalisa Zaccaroni, Andrea Gustinelli, Dino Scaravelli¹

Introduzione

I grandi vertebrati pelagici includono tra gli altri specie che sono da ritenere abbastanza rare per l'Alto Adriatico, quali *Mola mola*, *Cetorhinus maximus* e *Mobula mobular* (Bauchot 1987, Bradai & Capapé 2001, Notarbartolo di Sciarra & Bianchi 1998). Proprio a causa della loro rarità e della difficoltà di reperire esemplari da sottoporre ad analisi, per nessuna di queste specie esistono dati relativi all'accumulo di contaminanti e alla loro validità come indicatori ambientali, nonostante il fatto che esse siano da considerarsi di particolare interesse in quanto animali che raggiungono grandi dimensioni e vivono a lungo, e possono quindi potenzialmente accumulare elevate quantità di contaminanti (Houghton et al., 2006). In funzione della loro alimentazione, tipicamente planctofaga, è possibile ritenere che queste specie siano soggette ad un forte accumulo di alcuni metalli pesanti, quali cadmio ed arsenico, in quanto le loro prede sono forti accumulatrici di questi elementi (Ritterhoff e Zauke, 1997).

Il presente lavoro riporta le concentrazioni di metalli pesanti in vari tessuti prelevati da esemplari appartenenti alle tre specie, spiaggiati nell'Alto Adriatico tra il 2004 e il 2009.

Materiali e metodi

Gli esemplari considerati provenivano dall'Adriatico settentrionale ed erano tutti

soggetti rinvenuti lungo le coste comprese tra Goro (FE) ed Ancona.

In totale sono stati recuperati 3 esemplari femmina adulti di *Mola mola*, 1 esemplare femmina adulta di *Cetorhinus maximus* e 1 esemplare maschio giovane di *Mobula mobular*. I campioni di vari tessuti (rene, fegato, gonade, milza, muscolo, grasso, sottocute, contenuto stomacale e tessuto branchiale) sono stati prelevati in fase necroscopica, durante la quale sono anche state rilevate tutte le misure biometriche, il peso e il sesso degli animali (Tortonese 1957, Notarbartolo di Sciarra 1987, Notarbartolo di Sciarra & Serena, 1988). Il peso e il sesso degli esemplari di *M. mola* sono riportati in tabella 1 e le biometrie di *M. mobular* in tabella 2; l'esemplare femmina di *Cetorhinus maximus*, pescato da imbarcazioni durante l'esercizio professionale con rete volante, aveva una lunghezza totale di 425 cm ed un'età presunta dall'osservazione delle prime vertebre toraciche di circa 7 anni. Aliquote dei tessuti (0.7 g tessuto fresco) sono state sottoposte a procedure di mineralizzazione con forno a microonde ed a successiva analisi per la quantificazione di metalli pesanti (Pb, As, Cd, Hg, Cr, Cu, Se, Fe, Co, Ni) con tecnica ICP-OES. In considerazione dell'esiguità del campione, non è stato possibile effettuare un'analisi statistica dei dati ottenuti, che vengono quindi presentati solo come dati grezzi nei vari tessuti analizzati.

¹ Corso di Laurea in Acquacoltura ed Igiene delle Produzioni Ittiche, Gruppo di Ricerca sui grandi Vertebrati Pelagici, Facoltà di Veterinaria, Università di Bologna, Cesenatico.

Sog.	Sesso	Peso (kg)	Tessuto	Metallo (mg/kg)								
				Cu	Cd	As	Se	Hg	Cr	Pb	Ni	Fe
1	F	540	Rene	10,41	16,05	33,01	31,58	1,28	0,63	0,09	0,7	541
			Fegato	41,97	27,89	23,73	5,24	0,58	0,18	<LOD	0,07	620
			Gonadi	3,21	0,38	16,52	5,09	1,13	0,021	<LOD	<LOD	33,38
			Milza	1,93	0,93	32,57	127	1,12	0,16	<LOD	0,2	829
			Sottocute	0,16	0,06	22,16	2,88	0,18	1,38	<LOD	0,1	12
			Muscolo	7,76	7,77	31,81	9,56	0,53	2,12	1,72	1,14	599
2	F	1050	Rene	13,07	2,733	3,295	2,178	0,046	2,573	<LOD	<LOD	158
			Fegato	104,5	7,534	6,149	1,334	0,053	0,173	<LOD	0,804	22,41
			Gonadi	5,11	0,132	2,095	0,682	0,047	0,837	0,045	1,317	25
			Muscolo	3,031	0,047	2,25	0,227	<LOD	0,204	<LOD	0,047	6,558
			Branchie	3,822	0,156	0,896	0,254	<LOD	3,741	0,524	<LOD	100
3	F	1160	Rene	2,103	0,433	6,091	1,639	<LOD	0,193	<LOD	<LOD	29,21
			Fegato	70,66	5,985	19,41	1,196	0,06	0,087	<LOD	0,076	153
			Gonadi	1,577	0,028	2,807	0,425	0,003	0,091	<LOD	<LOD	8,873
			Milza	2,434	0,113	10,23	8,258	<LOD	0,232	0,008	0,43	324
			Sottocute	1,736	0,088	2,134	0,681	<LOD	0,192	0,032	<LOD	35,11
			Branchie	2,648	0,09	1,974	0,325	<LOD	2,023	0,311	0,585	174
			Grasso	1,324	0,008	20,82	0,474	0,021	0,226	<LOD	0,049	1,846

Tabella 1 - Livelli di metalli reperiti nei tessuti delle tre femmine di *Mola mola* (mg/kg peso fresco). LOD: limite di quantificazione

Parametro	Goro
Larghezza del disco	131
Lunghezza del disco alla pinna pelvica anteriore	63
Lunghezza della pinna dorsale	5,5
Altezza della pinna dorsale	5,3
Lunghezza della coda	147
Distanza tra cresta anteriore e prima fessura branchiale	14
Lunghezza della pinna cefalica	15
Altezza della pinna cefalica	6
Diametro dell'occhio	2,5
Altezza della testa	22,5
Distanza preorale	5,5

Tabella 2- Biometrie di *M. mobular* (secondo Notarbartolo di Sciarra 1987).

Risultati

I risultati ottenuti dell'analisi dei tessuti consentono di definire innanzitutto come nei soggetti da noi analizzati vi siano notevoli differenze interindividuali ed inter-tissutali per tutti i metalli, sia essenziali (Cu, Se, Fe, Ni) che tossici (Pb, As, Cd, Cr, Hg), come riportato in tabella 1 per *M. mola*, figura 1 per *C. maximus* e in tabella 3 per *M. mobular*.

Va innanzitutto sottolineato come Pb e Cd non siano rilevati in *C. maximus*. È inoltre interessante notare come sembra esservi un trend generale, per molti dei metalli oggetto di studio, alla diminuzione delle concentrazioni tissutali con l'aumentare delle dimensioni degli animali. Il fenomeno è particolarmente evidente per Se, Hg, Cr, Pb, Fe, Cd, mentre per gli altri metalli la va-

riabilità risulta maggiore. È comunque interessante notare come ad esempio l'As e il Cu seguano lo stesso andamento in rene, fegato e gonadi, unici tessuti raccolti in tutti e tre i soggetti di *M. mola*, e come questo trend sembri mantenersi anche negli altri tessuti. Pare quindi che in queste specie, per la quale non esistono dati di riferimento di natura tossicologica o di fisiologia dei metalli essenziali, vi sia una tendenza a ridurre i livelli tissutali di contaminanti e di elementi essenziali, fenomeno che risulta difficilmente spiegabile in funzione della cinetica nota per questi elementi, che tendono a biomagnificare nelle specie animali.

È interessante rilevare come il Cd, che normalmente viene reperito a più alte concentrazioni nel tessuto renale, sia sempre più

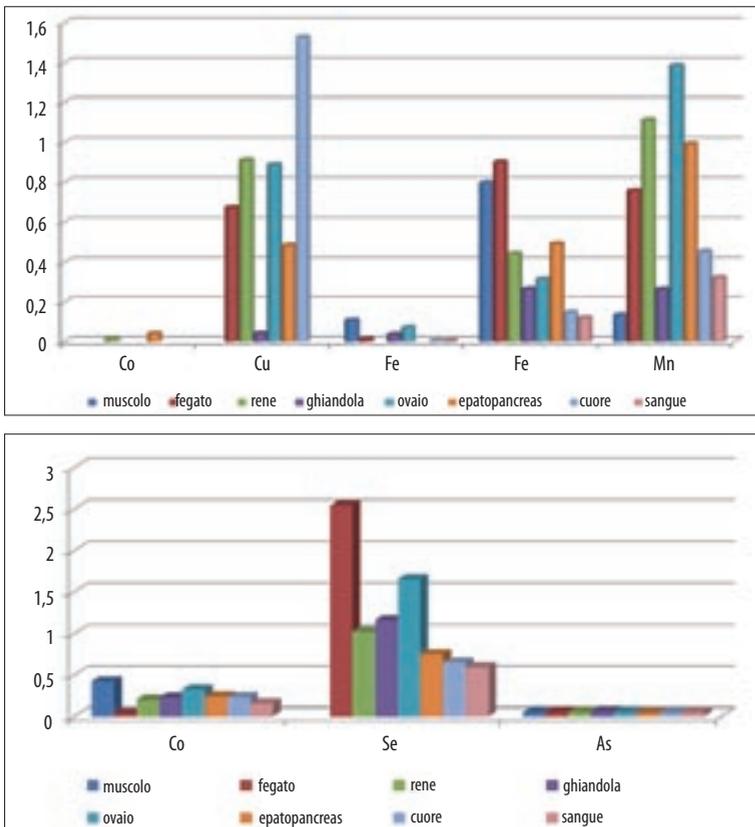


Figura 1. Livelli di metalli in differenti tessuti di *C. maximus* (mg/kg peso fresco).

Metallo (mg/kg)	Goro					
	Muscolo	Gonadi	Contenuto gastrico	Branchie	Contenuto intestinale	Fegato
As	11.23	13.94	25.26	10.47	12.89	64.19
Cd	0.01	<LOD *	<LOD	0.02	0.01	0.04
Co	0.01	0.01	0.02	0.08	<LOD	0.03
Cr	0.14	0.17	0.41	0.99	0.11	2.05
Cu	1.08	3.08	2.96	3.02	0.56	25.10
Fe	14.69	49.79	47.76	192.48	110.12	557.82
Hg	1.15	0.36	0.19	0.07	0.06	0.22
Ni	0.08	0.10	0.35	1.05	0.08	0.10
Pb	0.06	0.12	0.09	0.11	0.03	0.23
Se	0.38	0.67	0.81	BLD	0.08	0.47

*LOD: limite di quantificazione

Tabella 3. Livelli di metalli nei tessuti di *M. mobular* (mg/kg peso fresco).

elevato nel fegato, seguito da rene e dalla milza. Per quanto riguarda l'As, analogamente a quanto osservato in altri organismi planctofagi quali le tartarughe, i livelli più elevati sono reperiti in fegato, rene e grasso, sebbene in questo caso si osservino punte elevate anche in milza e muscolo. L'elevata variabilità osservata non consente di definire se le punte osservate in alcuni tessuti vadano intese come indicative di intossicazione o siano uno stato "normale" per questa specie, che potrebbe aver sviluppato fenomeni di adattamento, al pari di altre specie planctofaghe, agli elevati tenori di As presenti nelle loro prede.

In uno studio relativo all'accumulo di metalli pesanti lungo le catene trofiche del Coeur d'Alene River (USA), Farag et al. (1998) definiscono un pattern di arricchimento di vari metalli, osservando come mentre Hg e Cd possono bioaccumulare dal micro- al macro-zooplankton, As e Pb non lo fanno. Hg concentra solo nel passare da macro-zooplankton ai pesci.

In modo analogo, Bocher et al. (2003) valutano il bioaccumulo nelle procellarie dell'Oceano Indiano meridionale, osservando come i contaminanti si riscontrino alle concentrazioni più elevate solo in quelle specie la cui dieta presenta un minor contenuto di zooplankton (i.e. Blue petrel, 37.4%).

Queste osservazioni sembrano indicare come il plankton non rappresenti una fonte importante di metalli per le specie planctofaghe, ed è quindi poco probabile che gli elevati livelli di alcuni metalli osservati in questo studio possano essere di origine alimentare..

Il profilo di assorbimento definito per gli esemplari esaminati sembra quindi differire da quanto osservato in altre specie, nelle quali essi tendono ad accumulare nei tessuti poveri di lipidi, quali le branchie (Hall, 2002). Infatti, solo per Co, Cr e Ni le branchie presentano livelli più elevate, mentre per gli altri elementi questo organo presenta concentrazioni entro i valori medi osservati.

I livelli osservati infine sono da considerarsi bassi e al di sotto delle soglie tossiche defi-

nite per le specie marine, ad eccezione del caso dell'As. I valori di background per l'arsenico sono infatti definite nel range 3-10 mg/kg f.w. Nel presente studio infatti solo nel caso di *C. maximus* i valori di As rientrano in tale range, mentre nelle altre due specie essi si attestano nella quasi totalità dei casi a livelli molto superiori, e comunque sempre al di sopra della soglia di tossicità sub-cronica definita in 1.3-5 mg/kg per le specie acquatiche (Eisler, 1988). Si può quindi considerare possibile un potenziale effetto subacuto in questi esemplari.

Conclusioni

I risultati ottenuti sono i primi, a nostra conoscenza, relativi alla presenza di metalli pesanti in megavertebrati plactofagi, specie per altro scarsamente conosciute non solo sotto il punto di vista tossicologico, ma anche per quanto riguarda la sua biologia in generale. Da quanto ottenuto, pare che in particolare in *M. mola* si sia di fronte ad un fenomeno di biominificazione, rilievo piuttosto raro nel mondo animale, ed in particolare tra le specie ittiche (Zhao *et al.*, 2001). La tipologia di alimentazione e la conseguente posizione lungo la catena trofica (4 secondo Fishbase) potrebbero essere una possibile spiegazione del fenomeno (Froese e Pauly, 2004).

Ringraziamenti

Si ringraziano per l'impegno profuso P. Carpi (CNR Ancona), M. Affronte e Assopesca Ancona per l'interessamento in campo, per la disponibilità e competenza la Dr.ssa P. Massi dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale Lombardia ed Emilia Romagna, sede di Forlì, e per il supporto nella necroscopia P. Priori, G. Sonego e C. Varoli.

Bibliografia

- Bauchot ML. 1987. Fiches FAO d'Identification des Espèces pour les Besoins de la Pêche. Méditerranée et Mer Noire. Zone de Pêche 37. Revision 1. Il pp: 847–885. FAO, Rome.
- Bocher P, Caurant F, Miramand P, Cherel Y, Bustamante P. 2003. Influence of the diet on the bioaccumulation of heavy metals in zooplankton-eating petrels at Kerguelen archipelago, Southern Indian Ocean. *Polar Biology* 26: 759-767.
- Bradai MN, Capapé C. 2001. Captures du diable de mer, *Mobula mobular*, dans le golfe de Gabès (Tunisie méridionale, Méditerranée centrale). [Captures of the giant devil ray, *Mobula mobular*, in the Gulf of Gabes (Southern Tunisia, Central Mediterranean)]. *Cybium* 25: 389–391
- Celona A. 2004. Catture ed avvistamenti di *Mobula*, *Mobula mobular* (Bonnaterre, 1788) nelle acque dello Stretto di Messina. *Annales, Series Historia Naturalis*, 14: 21-25
- Compagno, L. J. V. 2001. *Sharks of the world. An annotated and illustrated catalogue of shark species known to date. Volume 2: Bullhead, mackerel and carpet sharks (Heterodontiformes, Lamniformes and Orectolobiformes)*. FAO Species Catalogue for Fisheries Purposes No. 1, Vol. 2: 269 p. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome. 269 p.
- Eisler R. 1988. Arsenic hazards to fish, wildlife, and invertebrates: a synoptic review. U.S. Fish and Wildlife Service Biological Report 85 (1.12), Contaminant Hazard Reviews Report No. 12. 65 pp.
- Farang AM, Woodward DF, Goldstein JN, Brumbaugh W, Meyer JS. 1998. Concentrations of metals associated with mining waste in sediments, biofilm, benthic macroinvertebrates, and fish from the

- Coeur d'Alene River basin, Idaho. Archives Environmental Contamination and Toxicology 34: 119-127.
- Fowler, S.L. 2000. *Cetorhinus maximus*. In: 2008 IUCN Red List of Threatened Species. IUCN 2008.
- Froese R., Pauly D. (2004) - Fishbase. World Wide Web Electronic Publication, <http://www.fishbase.org>
- Hall J.E. 2002. Bioconcentration, bioaccumulation, and biomagnification in Puget Sound biota: assessing the ecological risk of chemical contaminants in Puget Sound. UW Courses Web Server; http://courses.washington.edu/uwtjoe/2003_01_02.pdf.
- Hilton-Taylor C. 2000. 2000 IUCN Red List of Threatened Species. IUCN, Gland, Switzerland and Cambridge, UK.
- Houghton J.D.R., Doyle T.K., Davenport J., Hays G.C. (2006) - The ocean sunfish *Mola mola*: insights into distribution, abundance and behaviour in the Irish and Celtic Seas, *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, 86: 1237-1243
- Lipej L., Makovec T & M. Orlando, 2000. Occurrence of the basking shark, *Cetorhinus maximus* (Gunnerus, 1765), in the waters off Piran (Gulf of Trieste, Northern Adriatic). *Ann. Ser. Hist. Nat.*, 10, 2(21): 211-215.
- Mancusi C., S. Clò, M. Affronte, M.N. Bradai, F. Hemida, F. Serena, A. Soldo e M. Vacchi, 2005. On the presence of basking shark (*Cetorhinus maximus*) in the Mediterranean Sea. *Cybius* 2005, 29(4): 399-405.
- Muoz-Chapuli R, Notarbartolo di Sciarra G, Sret B, Stehmann M. 1993. Report of the Northeast Atlantic Subgroup of the IUCN Shark Specialist Group, June 1993.
- Notarbartolo di Sciarra G, Bianchi I. 1998. Guida degli squali e delle razze del Mediterraneo. Franco Muzzio Editore.
- Notarbartolo di Sciarra G, Serena F. 1988. Term embryo of *Mobula mobular* (Bonaterre, 1788) from the northern Tyrrhenian Sea (Chondrichthyes: Mobulidae). *Atti Soc. ital. Sci. Nat. Museo Civ. Stor. Nat. Milano* 129: 396-400.
- Notarbartolo di Sciarra G. 1987. A revisionary study of the genus *Mobula* Rafinesque, 1810 (Chondrichthyes: Mobulidae) with the description of a new species. *Zoological Journal of the Linnean Society* 91: 1-91.
- Ritterhoff J., Zauke G.P. (1997) - Trace metals in field samples of zooplankton from the Fram Strait and the Greenland Sea, *Sci. Total Environ.*, 199: 255-270
- Soldo A., D. Lučić e I. Jardas, 2008. Basking shark (*Cetorhinus maximus*) occurrence in relation to zooplankton abundance in the eastern Adriatic Sea. *Cybius* 32(2): 103-109.
- Tortonese E. 1957. Descrizione di un embrione di *Mobula mobular*. *Bollettino di Zoologia* 24: 45-47.
- Zhao X., Wang W-X., Yu K.N., Lamp P.K.S. (2001) - Biomagnification of radiocesium in a marine piscivorous fish, *Mar. Ecol. Progr. Ser.*, 222: 227-237.
- Zuffa M., Soldo A. & Storai T. (2001). Preliminary observations on abnormal abundance of *Cetorhinus maximus* (Gunnerus, 1765) in Middle and Northern Adriatic Sea. *Ann. Ser. Hist. Nat.*, 11(2): 185-192.

In questa collana

I caratteri distintivi ed i vantaggi dell'organizzazione a rete

Atti Workshop 25 Giugno 1998

M. Bompani / (esaurito)

Test di mutagenesi e monitoraggio ambientale, 2000

F. Cassoni, A. Buschini / (esaurito)

Inquinamento elettromagnetico da impianti di teleradiocomunicazioni

Atti Convegno 29 Gennaio 1999 e Fonti normative

S. Fabbri, S. Violanti / (esaurito)

Air Quality '98

Atti V Convegno nazionale, Ravenna 25/28 Ottobre 1998

A cura di Francesco Fortezza, Ottavio Tubertini / (esaurito)

Nuovi modelli di controllo per la sostenibilità ambientale

Atti del Seminario 1 Luglio 1999

M. Bompani, G. Morini, G. Sandon / (esaurito)

Verso la realizzazione di reti ecologiche in aree rurali

Studio pilota in provincia di Reggio Emilia, 2000

B. Cavalchi, G. Pungetti / (esaurito)

Il riuso delle acque reflue in agricoltura

Atti Workshop 10 Maggio 2000, Bologna / (esaurito)

Campi elettromagnetici

Prevenzione, comunicazione, controllo e ricerca

Atti del Convegno del 6/7 Novembre 2000, Bologna / (esaurito)

Arie di città

La qualità dell'aria in ambiente urbano

Atti del Convegno del 28/30 Novembre 2000, Bologna

Nitrati, acqua e suolo da salvaguardare

Prevenzione dell'inquinamento dei sistemi idrogeologici, 2000

A cura di Elisabetta Russo e Adriano Zavatti / (esaurito)

GITAS

Giovani Informati su Traffico Ambiente Salute, 2000

Un progetto per la mobilità sostenibile

A cura di F. S. Apruzzese e A. Gorrieri / (esaurito)

Indoor pollution microbiologico, 2002

Rassegna bibliografica ed esperienze dirette

A cura di Loretta Camellini con la collaborazione di: Patrizia Battistini, Milena Cavalchi, Maria Antonietta Morleo

Elaborazioni statistiche di Enzo Motta

Stato del litorale emiliano-romagnolo all'anno 2000

Il lavoro ideato e diretto da Mentino Preti

Arpa Emilia-Romagna, Ingegneria Ambientale / (esaurito)

Telerilevamento e ambiente

Atti del seminario sulle applicazioni ambientali del telerilevamento da satellite e da aereo

A cura di Vittorio Marletto / (esaurito)

Acqua, suolo, clima: conoscere per governare

alcune esperienze di Arpa-ER, 2003

Water, soil, climate: knowing to manage

some experience of Arpa-ER

A cura di Carla Rita Ferrari / (esaurito)

Verso un monitoraggio della biodiversità

Primo incontro formativo della rete APAT-ARPA - 8-9 ottobre 2001

A cura di Annalisa Ferioli, Claudia Milan, Federico L. Montanari / (esaurito)

Verso la gestione integrata delle zone costiere
Atti del seminario del 27 settembre 2001 - Cesenatico
A cura di Carla Rita Ferrari

EMAS II: benefici economici e gestione ambientale

La protezione dell'ambiente e lo sviluppo sostenibile applicato a tutti i settori dell'attività economica

Atti del convegno del 25 gennaio 2002 - Rimini

A cura di Gianna Sallesse

Pubblicazione solo digitale, documento in formato Acrobat .pdf scaricabile dalla pagina internet www.arpa.emr.it/quaderni.htm

Rifiuti speciali, monografie su alcune tipologie, 2003

A cura di Barbara Villani, Patricia Santini, Davide Verna con la collaborazione di Fabio Fantini / (esaurito)

Presenza e diffusione dell'arsenico nel sottosuolo e nelle risorse idriche italiane e nuovi strumenti di valutazione delle dinamiche di mobilitazione

A cura di Maria Grazia Scialoja

Analisi climatologica delle condizioni idrodinamiche nella fascia costiera dell'Emilia-Romagna

Climatological analysis of hydrodynamic conditions in the Emilia-Romagna coastal strip

A cura di Giuseppe Montanari, Nadia Pinaridi

Applicazione dei test di mutagenesi al monitoraggio ambientale

A cura di Francesca Cassoni

Inquinamento acustico. L'impegno del sistema agenziale

A cura di Anna Callegari

Stato del litorale emiliano-romagnolo all'anno 2007 e piano decennale di gestione

a cura di Mentino Preti

Arpa Emilia-Romagna

L'ecosistema urbano di Bologna.

Verso un report di sostenibilità

a cura di Vanes Poluzzi, Claudio Maccone, Arianna Trentini

Arpa Emilia-Romagna

Qualità dell'aria in Provincia di Reggio Emilia. 30 anni di reti di monitoraggio

a cura di Fabrizia Capuano, Luca Torreggiani

Arpa Emilia-Romagna

Chlorophyta multicellulari e fanerogame acquatiche. Ambienti di transizione italiani e litorali adiacenti

Adriano Sfriso

Arpa Emilia-Romagna

Bioaccumulo di microinquinanti nella rete trofica marina

Paola Martini

Arpa Emilia-Romagna

Per acquisire informazioni aggiornate sul reale stato di inquinamento generato da molecole potenzialmente pericolose e persistenti, nel 2003 si diede vita ad un programma finalizzato allo studio dei livelli di inquinamento negli organismi viventi.

L'areale interessato dal progetto è quello marino antistante la costa della Regione Emilia-Romagna. Analizzando i processi di bioaccumulo e biomagnificazione sono state valutate le principali sostanze persistenti (IPA, PCB, Diossine, metalli) che si accumulano nei vari organi di organismi distribuiti sulla catena trofica.

Si è focalizzato l'attenzione su raggruppamenti e specie che rappresentano posizioni chiave nella rete alimentare dal comparto pelagico a quello bentonico, in pratica dal fitoplancton fino ai grandi predatori passando dallo zooplancton, dai filtratori e dai piccoli predatori.

Lo studio della presenza di microinquinanti bioaccumulati, oltre che essere utile al fine di definire l'impatto ambientale arrecato da fenomeni di inquinamento massivo, è necessario anche per valutare il rischio per la salute dell'uomo quale consumatore terminale.