

Progetto: "Indagini sulla sicurezza alimentare dei prodotti ittici e della
maricoltura della regione Friuli-Venezia Giulia: studio su inquinanti
organici persistenti, bioaccumulabili e tossici".

Relazione di Sintesi

Dicembre 2005

Unità di Ricerca in Chimica Analitica ed Ambientale del Dipartimento di
Scienze Chimiche dell'Università degli Studi di Trieste

INDICE

1. INTRODUZIONE	3
2. OBIETTIVI DEL PROGETTO	5
3. GENERALITÀ SUI COMPOSTI CHIMICI DETERMINATI (PBT) E IL DANNO AL DNA	6
3.1 Gli Idrocarburi Poli-Aromatici (IPA)	7
3.2 I Policlorobifenili (PCB)	19
3.3. I Pesticidi Organoclorurati	27
3.4 Arricchimento naturale dei contaminanti	33
3.5 La Valutazione del danno al DNA: Il Metodo della Cometa	37
4. INDIVIDUAZIONE DI SORGENTI POTENZIALI DI INQUINANTI ORGANICI PBT	40
5. LE MATRICI ANALITICHE	45
5.1 Squilla Mantis (Pannocchia)	45
5.2 Mytilus Galloprovincialis (Mitilo o Cozza)	48
5.3 Gobius Niger (Ghiozzo Nero)	50
5.4 Sedimenti	51
6. OPERAZIONI DI CAMPIONAMENTO	52
6.1 Il campionamento	52
6.2 Stabulazione degli organismi	53
6.3 Conservazione dei campioni	53
7. RISULTATI DELLE ANALISI CHIMICHE	55
7.1 Idrocarburi Policiclici e Aromatici	55
7.2 Policlorobifenili	62
7.3 Pesticidi	69

8. RISULTATI DELLE ANALISI TOSSICOLOGICHE	76
9. DISCUSSIONE	94
9.1 Confronto dei risultati con valori di riferimento	94
9.2 Valutazione delle differenze di concentrazione tra polpa ed interiora per <i>Gobius niger</i>	102
9.3 Valutazione delle differenze di concentrazione tra esemplari di <i>Mytilus galloprovincialis</i> raccolti in superficie e sul fondo marino	102
9.4 Considerazioni conclusive	103
BIBLIOGRAFIA	107

1. INTRODUZIONE

Sempre maggiore è l'attenzione per la sicurezza degli alimenti, a seguito non solo delle frodi alimentari, ma anche di contaminazioni accidentali o non controllate; la recente istituzione dell'Autorità Europea per la Sicurezza degli Alimenti, con sede a Parma, dimostra la rilevanza di tale tematica nelle strategie comunitarie.

Speciale riguardo è necessario per il prodotto ittico, in quanto il mare è la destinazione finale di parte considerevole dei contaminanti prodotti ed utilizzati nell'ambiente terrestre.

Nel novero dei contaminanti, crescente importanza sta assumendo la classe di composti denominata "Contaminanti Persistenti Bioaccumulabili e Tossici (PBT)". Si tratta nella maggior parte dei casi di composti organici che sono stati immessi nell'ambiente per lungo tempo e, nonostante le restrizioni d'uso per l'accertata pericolosità, sono tutt'oggi presenti in molti ecosistemi. La loro persistenza è dovuta a caratteristiche chimico-fisiche che li rendono difficilmente biodegradabili.

Questi contaminanti, una volta giunti nell'ambiente marino, possono entrare nella catena alimentare e si accumulano negli organismi, a causa della loro tendenza a trasferirsi nei tessuti adiposi (bioaccumulo), e, salendo lungo la catena trofica dalle specie ittiche fino all'uomo, tendono ad aumentare in concentrazione (biomagnificazione). La presenza di PBT nell'organismo può provocare effetti dannosi a vari livelli, principalmente al sistema endocrino ed immunitario. Sono state altresì evidenziate alterazioni del sistema nervoso, di quello riproduttivo e dello sviluppo, con effetti in alcuni casi cancerogeni e mutageni.

In questa classe di composti sono di particolare interesse per il rischio a loro connesso, quelli che hanno, o hanno avuto, un impiego esteso (quali pesticidi e policlorobifenili), e quelli che derivano da processi comuni (ad esempio gli idrocarburi policiclici aromatici che derivano, ad esempio, da processi di combustione).

Per l'indagine sulla presenza di tali tossici nell'ambiente marino e quindi sulla sicurezza del prodotto ittico, quale alimento, è necessario affiancare agli

studi sulla contaminazione del biota - ad oggi piuttosto carenti per quel che riguarda gli ecosistemi regionali - le analisi chimiche dell'acqua e del sedimento.

Va sottolineato che nelle specie ittiche esposte a molti inquinanti simultaneamente, si possono evidenziare effetti eco-tossicologici amplificati, additivi o addirittura sinergici rispetto a quelli dovuti all'esposizione a singoli contaminanti.

Allo scopo di ottenere una visione articolata del problema, occorre esaminare specie che appartengono a diversi livelli della catena trofica (molluschi, crostacei, pesci); può risultare utile focalizzare l'attenzione su specie che siano a contatto per parte o tutta la loro vita con il fondo marino, dove i contaminanti tendono ad accumularsi. Molti dei composti organici in questione sono, infatti, spesso poco solubili in acqua, ma capaci di concentrarsi nei sedimenti.

Per i motivi su esposti si prestano ai fini d'indagine, oltre che per l'interesse commerciale, il mollusco *Mytilus galloprovincialis*, quale bioindicatore per le sue caratteristiche di biofiltratore e quindi di organismo molto esposto al bioaccumulo di tossici; il crostaceo *Squilla mantis* ed il pesce *Gobius niger*, quali specie bentoniche sensibili.

In considerazione del fatto che piccole dosi di contaminanti, assunte dagli organismi nel tempo, possono condurre a tossicità cronica piuttosto che acuta, risulta ad oggi, molto utile l'analisi delle alterazioni del DNA. È dimostrato, infatti, che alterazioni del patrimonio genetico conducono a interazioni col processo riproduttivo che possono avere notevoli impatti sul livello delle popolazioni ittiche. La presenza di contaminanti che inducono effetti mutageni su specie edibili, comporta inoltre un potenziale rischio di cancerogenesi per i consumatori del prodotto ittico.

Per evidenziare alterazioni del DNA, potenzialmente indicatrici di stress del pescato, sono disponibili varie metodologie eco-tossicologiche, tra cui riveste particolare interesse la gel elettroforesi su singola cellula (SCGE), nota anche come Comet assay o Test della Cometa. Il Comet assay è una metodica d'indagine rapida, semplice e sensibile alla misura delle alterazioni del DNA, già utilizzata efficacemente in campo medico ed ambientale.

2. OBIETTIVI DEL PROGETTO

Lo studio è stato rivolto alla valutazione di livelli di un'eventuale contaminazione di inquinanti organici persistenti, bioaccumulabili e tossici, (PBT) quali Idrocarburi Policiclici Aromatici (IPA), PoliCloroBifenili (PCB), e pesticidi, in prodotti ittici e della maricoltura, con particolare attenzione a produzioni tipiche del Golfo di Trieste, quali *Squilla mantis* (canocchia), *Gobius niger* (ghiozzo nero), e *Mutilus galloprovincialis* (mitilo), che, in considerazione della loro scarsa mobilità, ben si prestano a fungere da bioindicatori di fonti di inquinamento locali per l'ambiente marino.

Sono state individuate preliminarmente le fonti potenziali di inquinanti organici PBT (quali aree urbane, industriali e portuali e diffusori a mare di impianti di trattamento) e sono state effettuate analisi su campioni di taglia commerciabile in corrispondenza di esse e in zone vocate alla produzione. Lo studio ha avuto lo scopo di verificare se accorgimenti relativamente banali per la cattura delle specie considerate, riescano a mantenere livelli di inquinanti protettivi per la salute umana anche in corrispondenza di ambienti sottoposti a contaminazione antropica non trascurabile.

3. GENERALITÀ SUI COMPOSTI CHIMICI DETERMINATI (PBT) E IL DANNO AL DNA

I Contaminanti Persistenti, Bioaccumulabili e Tossici (PBT) sono sostanze tossiche e scarsamente biodegradabili, che possono quindi entrare nella catena alimentare e accumularsi fino a livelli nocivi per la salute umana. A questa categoria di inquinanti sono associate una serie di malattie, tra cui neoplasie, mutazioni genetiche e danni al sistema nervoso centrale e riproduttivo.

Alla categoria dei PBT appartengono composti come i pesticidi clorurati, il benzo(a)pirene, l'esaclorobenzene, i piombo-alchili, il mercurio, i PCB, le diossine e i furani.

Negli Stati Uniti per identificare e ridurre il rischio di esposizioni presenti e future a inquinanti persistenti, bioaccumulabili e tossici, a carico dell'uomo e dell'ambiente, il 16 novembre 1998 l'EPA (U.S. Environmental Protection Agency) ha realizzato una strategia denominata appunto PBT Strategy

La PBT Strategy delinea un approccio che si prefigge la riduzione del rischio e che include lo sviluppo e l'incremento di azioni nazionali pianificate per questa categoria di inquinanti. Questa strategia prevede, inoltre, un coordinamento internazionale finalizzato a creare una fitta rete di monitoraggio, ad incentivare la ricerca e a promuovere interventi di bonifica delle aree contaminate.

Programma internazionale sugli Inquinanti Organici Persistenti (POP)

Nel quadro di un'azione mirata alla riduzione degli impatti da inquinanti persistenti, l'UNEP (United Nations Environment Programme) ha promosso nel dicembre del 2000 un trattato globale, noto come Convenzione di Stoccolma, volto a preservare la salute degli esseri umani e degli ecosistemi dagli effetti nocivi dei POP. In questa categoria di composti ricadono i composti organici inclusi nella categoria dei PBT.

3.1 Gli Idrocarburi Poli-Aromatici (IPA)

Per idrocarburi poliaromatici si intende una ampia gamma (circa 500) di composti organici con due o più anelli benzenici condensati. Non sono considerati VOC (composti organici volatili) a causa della loro bassa volatilità e vengono classificati, tranne alcune eccezioni (naftaline) come composti organici semi-volatili (sVOC). Gli IPA si caratterizzano per il loro basso grado di solubilità in acqua, l'elevata capacità di aderire a materiale organico e la buona solubilità nei lipidi e in molti solventi organici.

Sono prodotti dalla combustione incompleta di materiale organico e dipendono dall'uso di olio combustibile, gas, carbone e legno per la produzione di energia.

Sono presenti nell'aria in seguito a combustione di combustibili fossili e carburanti per trazione, di processi industriali, di incendi di foreste e campi agricoli (queste ultime vengono considerate sorgenti temporanee). Negli ambienti interni provengono dalla combustione del tabacco e del combustibile utilizzato per riscaldamento e per alimentare forni e fornelli. Sono presenti anche nei cibi cucinati sulle fiamme, affumicati, etc. .

Caratteristiche generali degli IPA

Gli IPA rappresentano una classe numerosa di composti organici, tutti caratterizzati strutturalmente dalla presenza di due o più anelli aromatici condensati fra loro. In particolare, il nome IPA si riferisce ai composti contenenti solo atomi di carbonio e idrogeno (cioè, gli IPA non sostituiti e i loro derivati alchil-sostituiti), mentre il nome più generale "composti policiclici aromatici" include anche i derivati funzionali (es. i nitro-IPA). All'aumentare del numero di anelli benzenici impiegati aumenta il numero dei possibili composti.

Ovviamente non tutti questi composti sono presenti nell'ambiente in quantità rilevanti, o comunque tali da poter essere considerati degli inquinanti. Nella figura 3.1 per esempio sono riportate le strutture di 16 IPA inseriti nella lista

dei "priority pollutants" dall'US-EPA (United States-Environmental Protection Agency).

Solitamente nelle matrici ambientali non si ritrovano mai come composti singoli, ma all'interno di miscele dove sono presenti molte decine di IPA diversi e in proporzioni che in alcuni casi possono anche variare molto. Il fatto che l'esposizione avvenga ad una miscela di composti, di composizione non costante, rende difficile l'attribuzione delle conseguenze sulla salute alla presenza di uno specifico idrocarburo policiclico aromatico.

Da notare infine che la maggior parte degli IPA non ha un uso conosciuto e viene liberata nel corso dei vari processi come sostanza di scarto o sottoprodotto. Le eccezioni sono rappresentate dal Naftalene (nome commerciale: Naftalina), usato come antitarmico per i tessuti e da un uso occasionale di alcuni IPA (Naftalene, Acenaftene, Fluorene, Antracene, Fenantrene, Fluorantene e Pirene) come intermedi nella produzione di plastificanti, pigmenti, coloranti, medicinali e pesticidi.

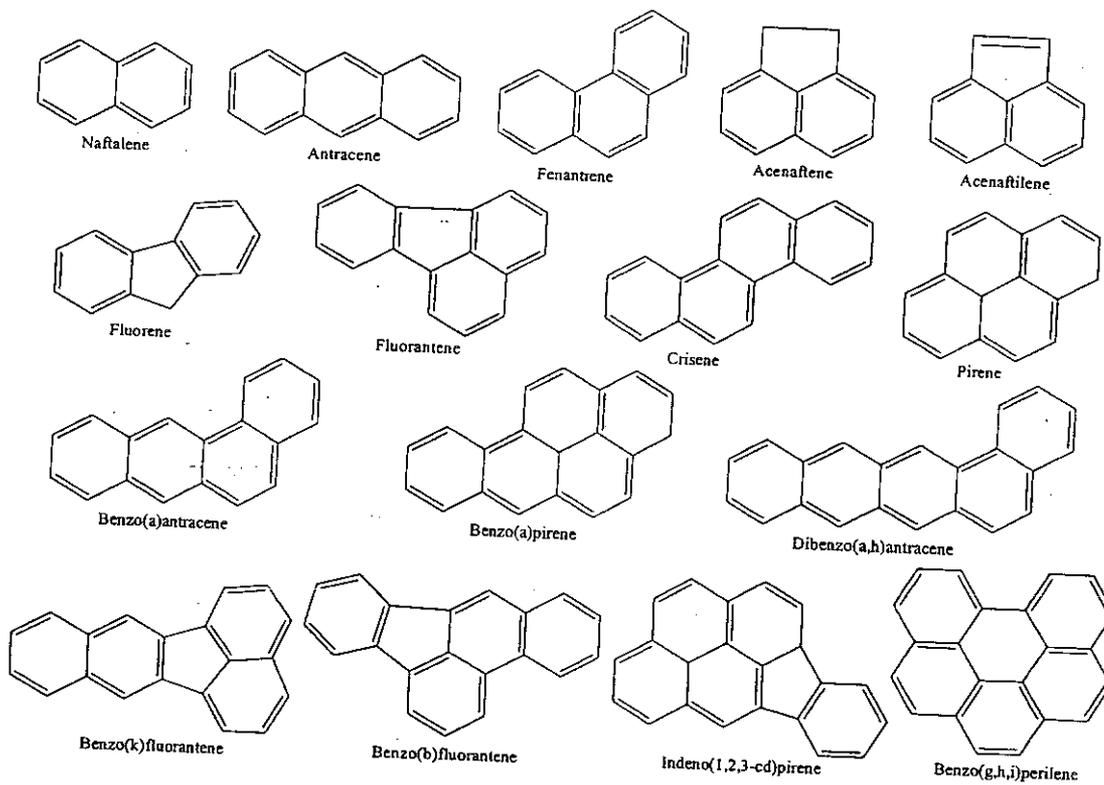


Figura 3.1.: Strutture dei 16 IPA inseriti nella lista dei "priority pollutants" dall'US-EPA (United States-Environmental Protection Agency).

Origine degli IPA

Gli IPA sono una delle classi più pericolose fra i comuni inquinanti ambientali; le principali fonti sono rappresentate dal traffico autoveicolare (emissioni dagli scarichi dei motori diesel e a benzina), dai processi industriali, dal catrame, dal fumo esalato durante la combustione incompleta del carbone o del legno, e in misura minore dal fumo delle sigarette e dalla superficie di alimenti affumicati; a queste sorgenti artificiali bisogna, poi, aggiungere le fonti naturali rappresentate dalle eruzioni vulcaniche e dagli incendi delle foreste.

Le polveri dell'ambiente urbano sono composte da vari tipi di fuliggine, che vengono emessi essenzialmente dai veicoli a motore. Questa fuliggine contiene quantità variabili di composti genotossici attivi altamente adsorbiti fra i quali, oltre agli idrocarburi policiclici aromatici, si trovano anche i loro nitroderivati (fra i quali il nitropirene e il dinitropirene) e i nitroareni, particolarmente abbondanti nel particolato ultrafine (con diametro $<1,1 \mu\text{m}$) dei motori diesel; spesso questi composti sono risultati cancerogeni più attivi dei corrispondenti idrocarburi non sostituiti. Per questo motivo le emissioni diesel sono state considerate come probabili agenti cancerogeni per l'uomo dall'Agenzia Internazionale per la Ricerca sul Cancro (IARC). Questi composti possono essere inalati in quantità notevoli dall'uomo in certe attività lavorative: asfaltatura di strade, impermeabilizzazioni edilizie mediante catramatura a caldo, conduzione di forni a carbone. Inoltre è stato evidenziato un possibile rischio per coloro che lavorano in zone ad elevato traffico autoveicolare, come i vigili urbani e gli addetti ai servizi di pulizia delle strade del centro.

L'esposizione professionale a sostanze contenenti questi idrocarburi causa un aumento dell'incidenza di varie patologie fra cui il carcinoma polmonare e gli epitelomi cutanei. Sono numerose le sperimentazioni che hanno dimostrato come il contatto cutaneo ripetuto produca epitelomi in tutte le specie animali. Neoplasie attribuibili a questi idrocarburi sono state osservate, anche di recente, soprattutto nei lavoratori del catrame esposti per via inalatoria o per contatto cutaneo. In passato sono state descritte casistiche di neoplasie polmonari nei soggetti addetti alla produzione del gas dal carbone fossile e di tumori cutanei nei soggetti esposti a oli minerali.

Poiché gli IPA sono potenti cancerogeni nella sede di contatto, per molti anni sono stati classificati tra i cancerogeni ad azione diretta; ricerche più recenti sembrano indicare che anche per queste molecole il vero composto attivo sia un derivato metabolico in forma di epossido.

Purtroppo, oggi gli IPA rischiano di contaminare in modo irreparabile tutte le matrici ambientali. Infatti, in seguito alla fuoriuscita del petrolio dalle navi-cisterna, dalle raffinerie e dai punti di trivellazione, si sono rinvenute tracce di questi inquinanti anche nelle acque (mari, fiumi, falde acquifere) e nel suolo, oltre che naturalmente nell'aria. Inoltre, sempre più spesso si osservano fenomeni di bio-accumulo, poiché gli IPA a più alto peso molecolare tendono ad accumularsi nei tessuti adiposi di alcuni organismi marini e questo spiega l'aumento dell'insorgenza di lesioni e tumori epatici in alcuni pesci.

Gli IPA sono contenuti anche nel fumo da tabacco, caratterizzato da una costituzione chimica complessa. Numerose ricerche sono state eseguite per accertare la pericolosità di tali sostanze nei confronti delle persone che fumano e di quelle che vi si trovano esposte (inquinamento in ambienti chiusi).

IPA come inquinanti delle acque

Gli idrocarburi policiclici aromatici rappresentano importanti inquinanti delle acque. Gli IPA sono generati, in quantità notevoli, dalla produzione dei distillati del catrame di carbone come il creosoto, utilizzato come conservante del legno. La lisciviazione degli IPA dal creosoto impiegato per conservare il legname immerso nelle banchine rappresenta una significativa fonte di inquinamento per i crostacei. Invero, all'inizio degli anni '80, in alcune zone della costa atlantica canadese fu proibita la pesca delle aragoste proprio per gli elevati livelli di IPA derivanti da tale fonte.

Gli IPA inquinano l'ambiente acquatico anche in seguito alla fuoriuscita di petrolio dalle petroliere, raffinerie e dai punti di trivellazione del petrolio in mare aperto. Nell'acqua potabile, il livello rappresentativo degli IPA ammonta a pochi nanogrammi per litro, tanto da essere considerato trascurabile per la salute dell'uomo. Si è osservato che gli IPA a più alto peso molecolare si accumulano nei tessuti adiposi di alcuni organismi marini; infatti sono stati collegati all'insorgenza di lesioni e tumori epatici in alcuni pesci e si ritengono di estrema importanza

nella distruzione delle popolazioni dei cetacei nella baia fiume San Lorenzo (Canada).

Il meccanismo di formazione degli IPA durante il processo di combustione è alquanto complesso e dovuto principalmente alla ripolimerizzazione di frammenti di idrocarburo che si formano durante il processo noto come cracking, dovuto principalmente alla ripolimerizzazione di frammenti di idrocarburo che si formano durante il processo noto come cracking, vale a dire la frammentazione in numerose parti delle molecole più grosse del combustibile a contatto con il fuoco. La reazione di ripolimerizzazione avviene soprattutto in condizioni di carenza di ossigeno; in genere la velocità di formazione degli IPA aumenta con il diminuire del rapporto ossigeno/combustibile. I frammenti spesso perdono qualche atomo di idrogeno, che genera acqua dopo essersi combinato con l'ossigeno durante le varie fasi della reazione. I frammenti ricchi di carbonio si combinano in modo da formare gli idrocarburi policiclici stabilità elevata e struttura geometrica piana.

Le proprietà chimiche e fisiche dipendono dalle loro dimensioni (numero di atomi di carbonio) e dalla struttura del sistema di elettroni π . Gli IPA sono solidi a temperatura ambiente e hanno punti di fusione e di ebollizione elevati. Tali composti sono altamente lipofili e sono generalmente insolubili in acqua.

A causa dell'alta lipofilia, gli IPA tendono ad associarsi con le sostanze particellari o con le sostanze oleose presenti nei sistemi acquosi. La solubilità in acqua decresce all'aumentare del peso molecolare, per cui gli IPA con più di quattro anelli si trovano sempre legati alle sostanze particellari, mentre gli IPA a basso peso molecolare (due o tre anelli) possono anche trovarsi liberi nei sistemi acquosi.

La tensione di vapore di questi composti è bassa ed è inversamente proporzionale al numero di anelli contenuti. Per questo motivo spesso gli IPA nell'atmosfera si associano con il particolato aereo. Inoltre si può osservare come al diminuire della temperatura, gli IPA aventi peso molecolare più elevato (4 anelli), caratterizzati da una bassa tensione di vapore, tendano rapidamente a condensare e a venire adsorbiti sulla superficie delle particelle di fuliggine e di cenere, mentre quelli a minore peso molecolare (3 anelli), aventi un'alta tensione

di vapore, rimangono parzialmente nella fase di vapore per poi condensare, precipitando al suolo o sulle acque.

Reattività

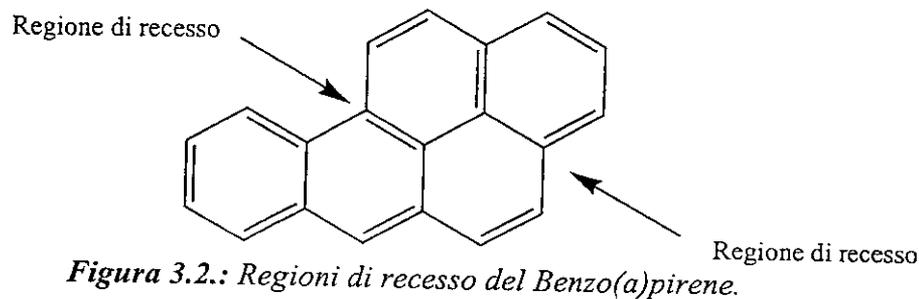
La reattività chimica degli IPA è influenzata da molti fattori ambientali fra i quali la temperatura, la luce, i livelli di ossigeno e di ozono, la presenza di co-inquinanti e di materiale capace di adsorbirli.

È stato osservato che la reattività degli IPA puri è maggiore rispetto a quella riscontrata negli idrocarburi adsorbiti su fuliggine; ciò suggerisce che l'adsorbimento su materiale particolato funga da protezione nei riguardi della foto-ossidazione. L'ossidazione fotochimica è uno fra i più importanti processi di decomposizione degli IPA.

Gli IPA possono subire anche ossidazioni chimiche reagendo con i radicali liberi e con l'ozono. Queste reazioni non sono influenzate dalla luce. La reazione con l'ozono dipende solo dalla struttura degli IPA. Altri studi hanno dimostrato come alcuni IPA si ossidano rapidamente al buio solo se sono adsorbiti su particelle contenenti radicali liberi. Nei sedimenti i processi ossidativi risultano inibiti, e si può osservare una persistenza di queste molecole.

Gli IPA possiedono alcune importanti caratteristiche:

- hanno molecole piane, con gli atomi di carbonio e idrogeno che giacciono sullo stesso piano;
- su ogni atomo di carbonio c'è un orbitale p perpendicolare al sistema degli anelli, di modo che gli elettroni π risultino delocalizzati sull'intero sistema;
- l'aromaticità è inferiore a quella del Benzene e risultano essere di conseguenza più reattivi;
- secondo la posizione nella molecola, gli atomi di carbonio hanno una diversa reattività sia verso le reazioni di sostituzione nucleofila aromatica, sia nelle reazioni di ossidazione e riduzione;
- la differenza di reattività delle varie posizioni aumenta all'aumentare del numero di anelli;
- le specie più cancerogene possiedono una regione di recesso (*bay region*) formata da una ramificazione nella sequenza di atomi degli anelli benzenici (figura 3.2).



IPA come cancerogeni

Gli IPA sono ritenuti tra i maggiori responsabili della comparsa di danni alla salute delle popolazioni; inoltre le loro caratteristiche chimico-fisiche fanno sì che, pur essendo usualmente emessi nell'atmosfera sotto forma gassosa, tendano rapidamente a condensarsi. Tale caratteristica facilita l'adsorbimento sulla superficie del particolato.

Riguardo alla potenzialità di danno degli IPA, vari studi hanno dimostrato che l'esposizione ad elevate concentrazioni provoca un aumento dell'incidenza di patologie tumorali ai polmoni, alla pelle e ad altre zone esposte a questi composti.

Il potenziale effetto cancerogeno differisce tra le varie molecole e per alcune di queste non è stata ancora determinata l'effettiva capacità di danno. L'Agenzia per la Ricerca sul Cancro ha classificato, fino ad ora, 48 IPA in funzione della loro capacità di fungere da induttori tumorali.

Di seguito viene illustrata la reazione di mutogenesi del benzo(a)pirene (BaP). Il BaP viene estesamente metabolizzato in vari tessuti e organi (polmone, pelle, esofago, colon, fegato, placenta, ecc...) e in genere il primo passo del suo metabolismo, finalizzato ad aumentarne la idrofilicità e facilitarne l'escrezione attraverso urine e feci, è un'ossidazione (Reazione della Fase I). La reazione è catalizzata dal sistema enzimatico citocromo P450 associato al reticolo endoplasmatico delle cellule e porta alla formazione di epossidi e specie idrossilate in varie posizioni, che possono subire a loro volta ulteriori trasformazioni metaboliche (Reazioni della Fase II). Quindi mentre il BaP in sé è

chimicamente inerte (precancerogeno, richiede bioattivazione), nel corso di queste reazioni metaboliche possono formarsi degli intermedi elettrofilici (cancerogeni e genotossici) capaci di interagire con varie macromolecole biologiche, compreso il DNA. La sequenza di trasformazioni metaboliche subite dal BaP di cui si è discusso viene presentata qui di seguito.

1. La prima trasformazione è la epossidazione nelle posizioni 7 e 8, le più reattive, che rappresentano la cosiddetta regione K (figura 3.3).

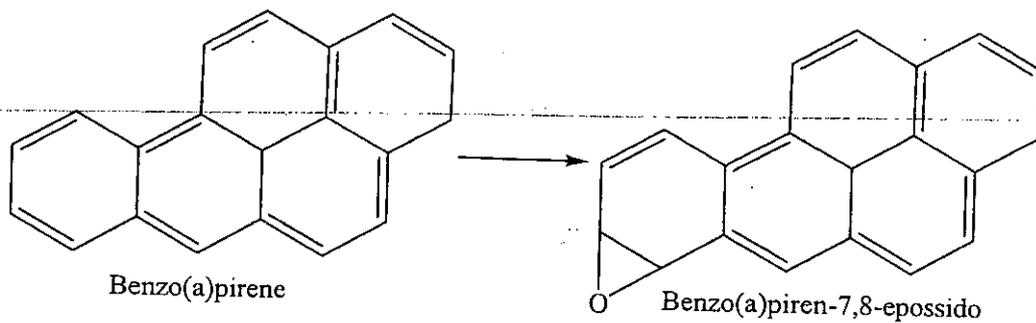


Figura 3.3.: Epossidazione del Benzo(a)pirene a Benzo(a)piren-7,8-epossido.

2. L'epossido subisce un attacco nucleofilo da parte dell'acqua, con formazione di un diolo, più idrosolubile e quindi più facilmente eliminabile (figura 3.4).

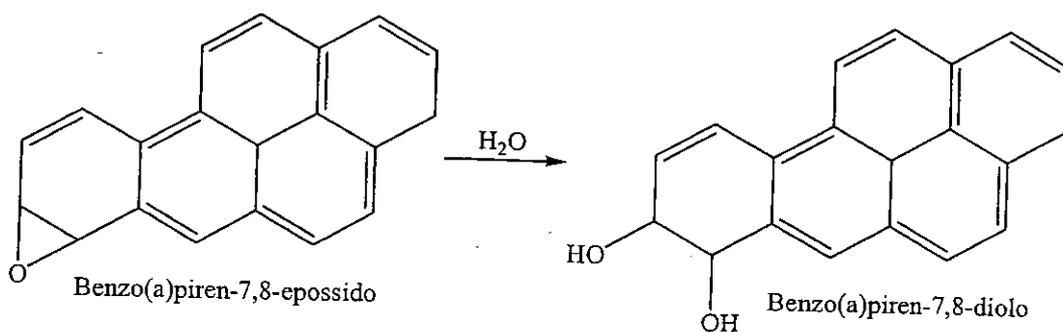


Figura 3.4.: Attacco nucleofilo da parte dell'acqua al Benzo(a)piren-7,8-epossido.

3. Il Benzo(a)pirene-7,8-diolo che non viene escreto dall'organismo può essere ulteriormente epossidato regio- e stereoselettivamente. Si forma il Benzo(a)piren-7,8-diolo-9,10-eossido che si ritiene essere la specie effettivamente cancerogena (figura 3.5).

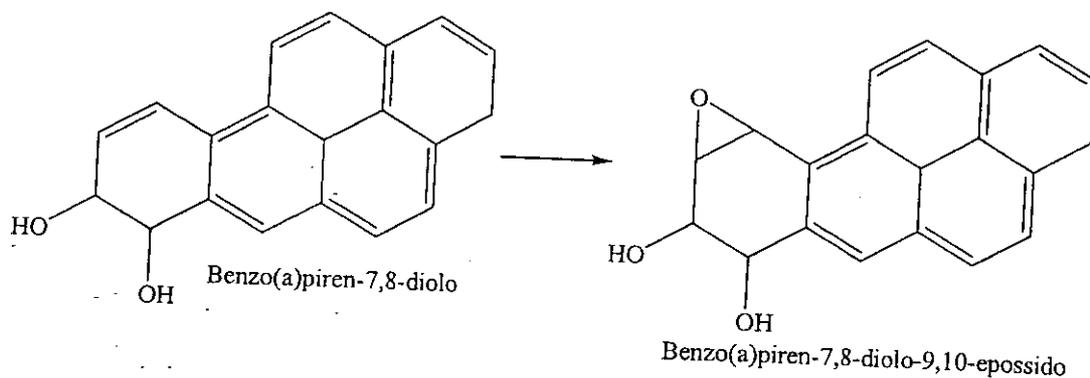


Figura 3.5.: Eossidazione del Benzo(a)piren-7,8-diolo a Benzo(a)piren-7,8-diolo-9,10-eossido.

4. Il diolo eossido viene legato al DNA attraverso un attacco nucleofilo, ad esempio da parte dell'Adenina (figura 3.6). L'attacco covalente del grosso residuo idrocarburico rappresenta un evidente danno per il DNA. Questo danno provoca delle mutazioni e, con le mutazioni, una maggiore probabilità di cancerogenesi.

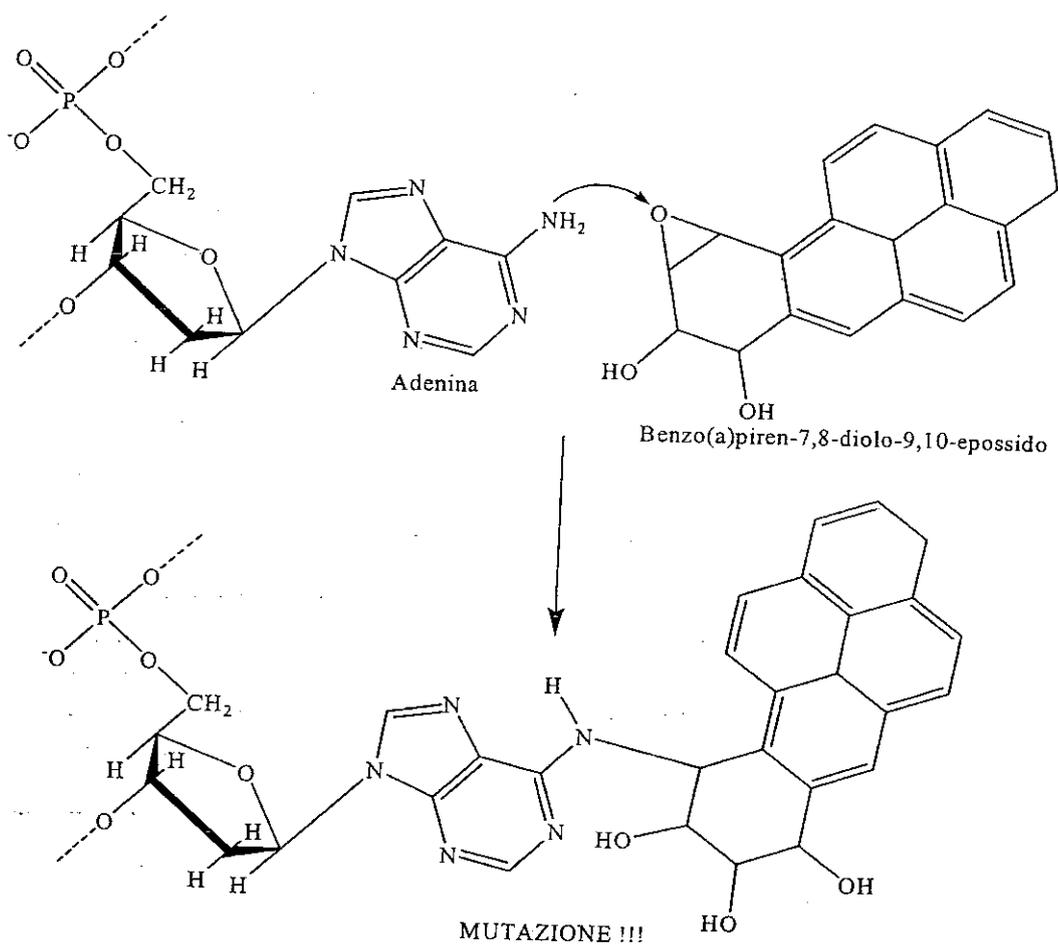


Figura 3.6.: Attacco nucleofilo del Benzo(a)piren-7,8-diolo-9,10-eossido all' Adenina.

La tabella 3.1 riporta, infine, le valutazioni tossicologiche formulate sul Benzo(a)pirene dallo Scientific Committee on Food (SCF), dal World Health Organization (WHO), dall'International Agency for Research on Cancer (IARC) e dalla Commissione Europea (CE).

Genotossicità	Cancerogenicità		
SCF (2002)	WHO (1998)	IARC (1987)	CE (2001)
positivo	positivo	categoria 2A	categoria 2

Tabella 3.1.: Valutazioni tossicologiche formulate sul Benzo(a)pirene dallo Scientific Committee on Food (SCF), dal World Health Organization (WHO), dall'International Agency for Research on Cancer (IARC) e dalla Commissione Europea (CE).

3.2 I Policlorobifenili (PCB)

I policlorobifenili (PCB) sono inquinanti ambientali diffusi e persistenti e fanno parte della classe chimica dei POPs (Persistent Organic Pollutants). Sono messi al bando, almeno nel loro uso in ambiente aperto. Sono considerati inquinanti ubiquitari essendosene verificata la presenza in tutta l'antroposfera, in zone anche molto distanti da quelle di emissione (*Long Range Transport*).

La formula chimica dei PCBs è $C_{12}H_{10-n}Cl_n$ dove n varia da 2 a 10. In teoria sono possibili 209 differenti congeneri, ma soltanto 130 di questi sono stati identificati nei prodotti commerciali. Ballschmiter e Zell (Beck, 1994) hanno proposto un sistema di numerazione per i PCB adottato dalla IUPAC (tabella 3.2).

Sono preparati a partire da 2 molecole di benzene che, ad elevata temperatura ed in presenza di piombo come catalizzatore, si uniscono tramite legame fra due atomi di carbonio, ciascuno dei quali perde un atomo di idrogeno (figura 3.7):

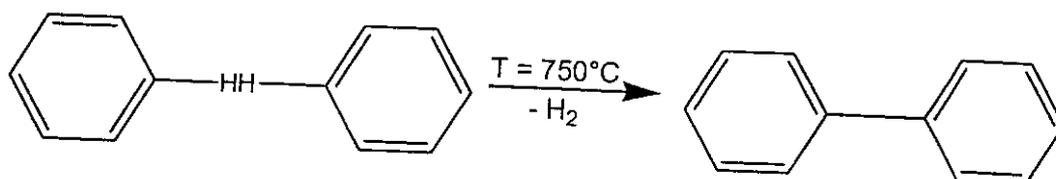


Figura 3.7: Unione di due atomi di benzene per formare un difenile.

I difenili vengono fatti reagire con Cl_2 , in presenza di cloruro ferrico come catalizzatore, ed alcuni atomi di H vengono sostituiti dall'alogeno. Tanto maggiore è la quantità di Cl all'inizio della reazione, tanto maggiore sarà il grado di clorurazione del prodotto finale (figura 3.8):

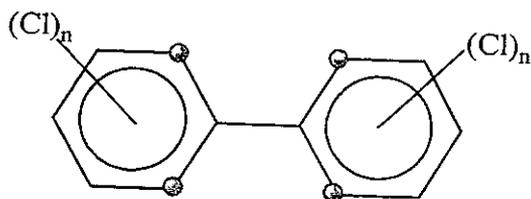


Figura 3.8: Clorurazione di un difenile.

No.	Structure	No.	Structure	No.	Structure	No.	Structure
1	2	56	2,3,3',4'	111	2,3,3',5,5'	166	2,3,4,4',5,6
2	3	57	2,3,3',5	112	2,3,3',5,6	167**	2,3',4,4',5,5'
3	4	58	2,3,3',5'	113	2,3,3',5',6	168	2,3',4,4',5,6
4	2,2'	59	2,3,3',6	114**	2,3,4,4',5	169*	3,3',4,4',5,5'
5	2,3	60	2,3,4,4'	115	2,3,4,4',6	170***	2,2',3,3',4,4',5
6	2,3'	61	2,3,4,5	116	2,3,4,5,6	171	2,2',3,3',4,4',6
7	2,4	62	2,3,4,6	117	2,3,4',5,6	172	2,2',3,3',4,5,5'
8	2,4'	63	2,3,4',5	118**	2,3',4,4',5	173	2,2',3,3',4,5,6
9	2,5	64	2,3,4',6	119	2,3',4,4',6	174	2,2',3,3',4,5,6'
10	2,6	65	2,3,5,6	120	2,3',4,5,5'	175	2,2',3,3',4,5',6
11	3,3'	66	2,3',4,4'	121	2,3',4,5',6	176	2,2',3,3',4,6,6'
12	3,4	67	2,3',4,5	122	2',3,3',4,5	177	2,2',3,3',4',5,6
13	3,4'	68	2,3',4,5'	123**	2',3,4,4',5	178	2,2',3,3',5,5',6
14	3,5	69	2,3',4,6	124	2',3,4,5,5'	179	2,2',3,3',5,6,6'
15	4,4'	70	2,3',4',5	125	2',3,4,5,6'	180***	2,2',3,4,4',5,5'
16	2,2',3	71	2,3',4',6	126*	3,3',4,4',5	181	2,2',3,4,4',5,6
17	2,2',4	72	2,3',5,5'	127	3,3',4,5,5'	182	2,2',3,4,4',5,6'
18	2,2',5	73	2,3',5',6	128	2,2',3,3',4,4'	183	2,2',3,4,4',5',6
19	2,2',6	74	2,4,4',5	129	2,2',3,3',4,5	184	2,2',3,4,4',6,6'
20	2,3,3'	75	2,4,4',6	130	2,2',3,3',4,5'	185	2,2',3,4,5,5',6
21	2,3,4	76	2',3,4,5	131	2,2',3,3',4,6	186	2,2',3,4,5,6,6'
22	2,3,4'	77*	3,3',4,4'	132	2,2',3,3',4,6'	187	2,2',3,4',5,5',6
23	2,3,5	78	3,3',4,5	133	2,2',3,3',5,5'	188	2,2',3,4',5,6,6'
24	2,3,6	79	3,3',4,5'	134	2,2',3,3',5,6	189**	2,3,3',4,4',5,5'
25	2,3',4	80	3,3',5,5'	135	2,2',3,3',5,6'	190	2,3,3',4,4',5,6
26	2,3',5	81	3,4,4',5	136	2,2',3,3',6,6'	191	2,3,3',4,4',5',6
27	2,3',6	82	2,2',3,3',4	137	2,2',3,4,4',5	192	2,3,3',4,5,5',6
28	2,4,4'	83	2,2',3,3',5	138	2,2',3,4,4',5'	193	2,3,3',4',5,5',6
29	2,4,5	84	2,2',3,3',6	139	2,2',3,4,4',6	194	2,2',3,3',4,4',5,5',5'
30	2,4,6	85	2,2',3,4,4'	140	2,2',3,4,4',6'	195	2,2',3,3',4,4',5,6
31	2,4',5	86	2,2',3,4,5	141	2,2',3,4,5,5'	196	2,2',3,3',4,4',5,6'
32	2,4',6	87	2,2',3,4,5'	142	2,2',3,4,5,6	197	2,2',3,3',4,4',6,6'
33	2',3,4	88	2,2',3,4,6	143	2,2',3,4,5,6'	198	2,2',3,3',4,5,5',6
34	2',3,5	89	2,2',3,4,6'	144	2,2',3,4,5',6	199	2,2',3,3',4,5,6,6'
35	3,3',4	90	2,2',3,4',5	145	2,2',3,4,6,6'	200	2,2',3,3',4,5',6,6'
36	3,3',5	91	2,2',3,4',6	146	2,2',3,4',5,5'	201	2,2',3,3',4',5,5',6
37	3,4,4'	92	2,2',3,5,5'	147	2,2',3,4',5,6	202	2,2',3,3',5,5',6,6'
38	3,4,5	93	2,2',3,5,6	148	2,2',3,4',5,6'	203	2,2',3,4,4',5,5',6
39	3,4',5	94	2,2',3,5,6'	149	2,2',3,4',5',6	204	2,2',3,4,4',5,6,6'
40	2,2',3,3'	95	2,2',3,5',6	150	2,2',3,4',6,6'	205	2,3,3',4,4',5,5',6
41	2,2',3,4	96	2,2',3,6,6'	151	2,2',3,5,5',6	206	2,2',3,3',4,4',5,5',6
42	2,2',3,4'	97	2,2',3',4,5	152	2,2',3,5,6,6'	207	2,2',3,3',4,4',5,6,6'
43	2,2',3,5	98	2,2',3',4,6	153	2,2',4,4',5,5'	208	2,2',3,3',4,5,5',6,6'
44	2,2',3,5'	99	2,2',4,4',5	154	2,2',4,4',5,6'	209	2,2',3,3',4,4',5,5',6,6'
45	2,2',3,6	100	2,2',4,4',6	155	2,2',4,4',6,6'		
46	2,2',3,6'	101	2,2',4,5,5'	156**	2,3,3',4,4',5		
47	2,2',4,4'	102	2,2',4,5,6'	157**	2,3,3',4,4',5'		
48	2,2',4,5	103	2,2',4,5',6	158	2,3,3',4,4',6		
49	2,2',4,5'	104	2,2',4,6,6'	159	2,3,3',4,5,5'		
50	2,2',4,6	105**	2,3,3',4,4'	160	2,3,3',4,5,6		
51	2,2',4,6'	106	2,3,3',4,5	161	2,3,3',4,5',6		
52	2,2',5,5'	107	2,3,3',4',5	162	2,3,3',4',5,5'		
53	2,2',5,6'	108	2,3,3',4,5'	163	2,3,3',4',5,6		
54	2,2',6,6'	109	2,3,3',4,6	164	2,3,3',4',5',6		
55	2,3,3',4	110	2,3,3',4',6	165	2,3,3',5,5',6		

Tabella 3.2: Numerazione IUPAC e posizioni degli atomi di cloro in tutti i congeneri dei PCB.

I PCB sono praticamente resistenti al fuoco per il loro elevato punto d'infiammabilità (170-380°). Formano vapori più pesanti dell'aria, ma non sono esplosivi. Hanno bassa conduttività elettrica, alta conduttività termica e un'alta resistenza alla degradazione termica. Sulla base di queste proprietà sono stati usati come isolatori dielettrici in attrezzature elettriche.

Come gran parte di organo-cloro composti, molti congeneri sono altamente resistenti e si accumulano all'interno della catena alimentare. Studi in diverse parti del mondo hanno rivelato un'estesa distribuzione dei PCB nell'ambiente. Questa distribuzione suggerisce che i PCB siano trasportati dall'aria (Svensson et al, 1991).

La produzione dei PCB è iniziata nel 1929, ma solo nel 1966 entrano di fatto nelle liste delle sostanze inquinanti, a seguito di incidenti che dimostravano la gravità e la diffusione del problema dell'inquinamento da PCB (Faerden, 1991). Da studi successivi si fanno risalire i primi aumenti di concentrazione dei PCB agli anni '40, ma picchi elevati di concentrazione si registrano nei primi anni settanta. Quali inquinanti sono considerati prioritari, essendo diffusi, in concentrazioni relativamente alte, su tutto il pianeta, anche nelle zone più remote come quelle artiche o subartiche, per i naturali fenomeni di diffusione dei composti persistenti.

Reattività

L'esposizione dei PCB a elevate temperature, in presenza di ossigeno, può causare, per ossidazione, la produzione di piccole quantità di policlorodibenzofurani (PCDF), appartenenti alla medesima famiglia (figura 3.9):

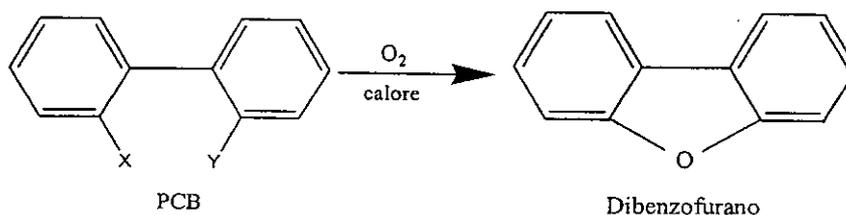


Figura 3.9: Eossidazione di un PCB a formare un policlorodibenzofurano.

Ovviamente le molecole che possono formarsi sono diverse, a seconda della posizione degli atomi di cloro nella molecola di partenza e dalla rotazione, intorno al legame centrale che unisce gli anelli, che si verifica durante la reazione.

Quasi tutti i campioni di PCB in commercio sono contaminati da PCDF. In genere si tratta di poche ppm nelle miscele, ma se tali preparati vengono poi successivamente esposti ad alte temperature, il grado di contaminazione aumenta, proprio per la reazione appena descritta. Si ha produzione di furano, anche quando si opera una combustione di prodotti contenenti PCB, rischio in cui si incorre nei normali impianti di incenerimento.

Impiego e principali sorgenti

Le applicazioni pratiche dei PCB sfruttano le loro proprietà dielettriche, di inerzia chimica e di resistenza a calore e fuoco, nonché la ridotta variabilità delle loro caratteristiche chimico-fisiche nel tempo, anche sotto l'azione di forti sollecitazioni. Sono stati inizialmente impiegati nell'industria elettrotecnica per poi essere sfruttati in numerosi altri campi:

- come fluidi refrigeranti in trasformatori elettrici e condensatori;
- come plastificanti, per materiali plastici generici (PVC) o con buone caratteristiche di isolamento elettrico, (cavi elettrici);
- come solventi disinchiostranti nel riciclaggio della carta;
- come liquidi conduttori del calore in impianti scambiatori di calore operanti ad elevate temperature e ad elevata capacità termica, anche operanti ad alte pressioni (applicazioni subacquee);
- come liquidi impermeabilizzanti;
- nella produzione di carte speciali, come quelle autocopianti.

Produzione, commercializzazione e impiego di apparecchi contenenti PCB, sono strettamente regolati dalla legge.

Dopo la rilevazione dell'alto rischio ambientale e per la salute umana, i PCB sono stati messi al bando nei paesi più avanzati (nel 1972 in Giappone, nel 1976 negli USA, nel 1984 in Italia), almeno per quel che riguarda il loro uso all'aperto;

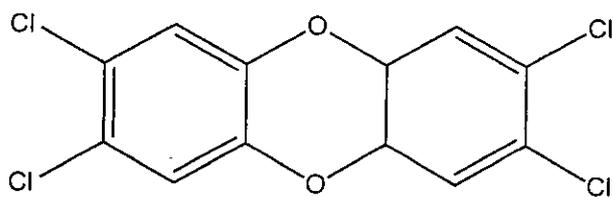
sono però tutt'ora impiegati in molti Paesi in via di sviluppo per la produzione di trasformatori elettrici e condensatori, in associazione a benzeni policlorurati.

Tossicità: principali rischi per la salute umana

I PCB, e i loro derivati diossinici e furanici, provocano reazioni tossiche nell'uomo. L'esposizione riguarda prevalentemente i lavoratori addetti alla produzione di apparecchi contenenti PCB, oppure consumatori casuali di cibo contaminato. La tossicità è strettamente correlata alla stabilità delle molecole.

Una volta penetrati nell'organismo, attraverso contatto cutaneo, inalazione o ingestione, si accumulano nei tessuti adiposi e non vengono né metabolizzati né escreti con facilità, a causa della loro struttura chimica, povera di coppie di H attaccabili dai sistemi ossidrilici dell'organismo umano. In questo senso risultano molto meno pericolosi i composti a basso numero di atomi di cloro, che vengono più semplicemente metabolizzati.

Oltre che al numero di atomi di cloro, la tossicità è strettamente legata alla posizione di questi nella molecola; i PCB meta e para sostituiti, (senza Cl in posizioni orto), risultano a più elevata tossicità perché i 2 anelli benzenici, per il minor ingombro dei sostituenti, sono in grado di collocarsi sullo stesso piano. Si parla di composti complanari, poiché assumono configurazione del tutto simile a quella della 2,3,7,8- tetraclorodibenzodiossina, uno dei composti più tossici per gli organismi viventi, fra quelli conosciuti (figura 3.10):



2,3,7,8-tetraclorodibenzodiossina

Figura 3.10: Molecola di 2,3,7,8- tetraclorodibenzodiossina.

Come tali sono in grado di legarsi ad uno specifico recettore (Ah) e di attraversare quindi le membrane biologiche; una volta nel citoplasma formano un complesso attivato in grado di penetrare nel nucleo, dove si legano al DNA in specifiche zone denominate DRE (Dioxin Responsive Elements: elementi sensibili alle diossine), favorendo la produzione di mRNA anomalo che induce il funzionamento del complesso sistema di enzimi del Citocromo P-450 e la produzione di proteine, responsabili delle manifestazioni tossiche.

La presenza di uno o due atomi di Cl in posizione orto comporta una minore stabilità della struttura complanare, con conseguente diminuzione della possibilità di legarsi al recettore Ah; diminuisce, così, il livello di tossicità.

a) Effetti sul sistema immunitario

Studi su giovani scimmie hanno evidenziato l'ingrossamento del timo, con conseguente rallentamento della risposta immunitaria e minor resistenza a virus e batteri patogeni, corrispondente ad una maggior suscettibilità alle malattie.

b) Effetti cancerogeni

Anche se le conclusioni sembrano ancora piuttosto incerte, da esperimenti su animali e test epidemiologici su popolazioni umane, si può dedurre la cancerogenicità dei PCB, a seguito dell'ingestione di anche piccole quantità di inquinanti (Silberhorn et al., 1990). L'ingestione è generalmente del tutto casuale, attraverso alimenti accidentalmente contaminati, come per esempio quelli accumulati nel tessuto adiposo di pesci o uccelli.

Le ricerche hanno evidenziato un aumento dell'insorgenza di cancro allo stomaco, melanoma e linfoma, probabilmente correlati all'immunodepressione. Gli effetti cambiano al variare della composizione della miscela di PCB e sembrano aumentare all'aumentare del grado di clorurazione dei composti.

c) Effetti cutanei

Per coloro che lavorano in impianti di produzione di apparecchi contenenti PCB, gli effetti sono diversi, essendo il contatto per lo più di tipo cutaneo. La

reazione più frequente è la cloroacne, eruzione cutanea persistente, deturpante e dolorosa, tipica dei composti clorati.

d) Effetti sul sistema nervoso centrale

Gli studi su animali e su bambini nati da donne soggette all'esposizione ai PCB hanno evidenziato, ritardo nella crescita e anomalie nello sviluppo, almeno fino ai quattro anni di età, nonché disturbi alla memoria e deficienze nello sviluppo neurologico (Fein et al., 1984).

e) Effetti sul sistema endocrino

Studi recenti hanno evidenziato legami fra l'esposizione e il sistema tiroideo, con conseguente anomala produzione degli ormoni tiroidei, fondamentali per sviluppo e crescita.

f) Altri effetti

Oltre agli effetti menzionati, sono stati anche osservati: diminuzione del peso, ipertensione, aumento dei livelli di trigliceridi e colesterolo (Birnbaum, 1995).

PCB nell'ambiente

I PCB nell'ambiente hanno un'elevata persistenza, proporzionale al grado di clorazione e risultano difficili e a volte impossibili da metabolizzare o smaltire. Prima del 1966, i prodotti industriali contenenti PCB venivano semplicemente conferiti in discarica e il loro contenuto era libero di disperdersi nell'ambiente.

La pericolosità è tutt'ora legata alle sostanze già disperse il cui destino è schematizzato in fig.3.11. Sono semivolatili e idrofobiche, si ripartiscono rapidamente nel suolo, attraverso solventi organici, ma tendono ad accumularsi maggiormente nei sedimenti; possono quindi adsorbirsi sul particolato solido e giungere alle acque sotto forma di particelle sospese. Le piccole quantità di PCB che giungono sulla superficie delle acque volatilizzano costantemente, e in maniera piuttosto rapida, verso l'atmosfera. Qui vengono trasportate nell'aria anche per giorni, senza subire modificazioni, a causa della loro inerzia chimica; in

una prima fase il vapore si associa al particolato e come tale reagisce con i radicali ossidrilici, quindi i composti tornano sulla terra attraverso le precipitazioni meteoriche, per ricominciare il ciclo. Attraverso le acque vengono inoltre assorbite da vegetali e fauna ittica, entrando di conseguenza nella catena alimentare.

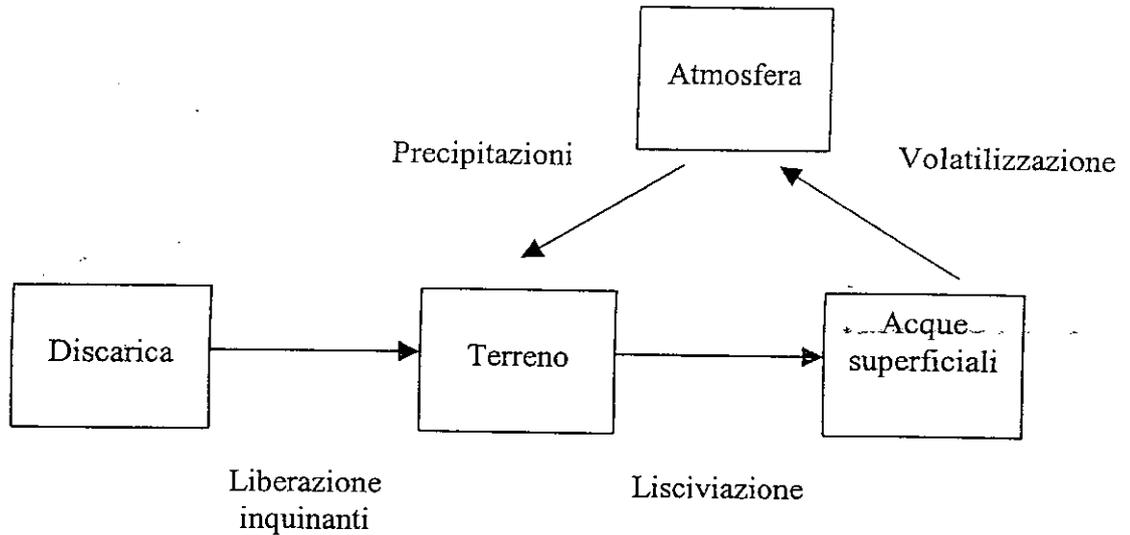


Figura 3.11: Descrizione schematica del ciclo dei PCB nell'ambiente.

Questi cicli di evaporazione-condensazione dipendono fortemente dalla temperatura e questo può spiegare la presenza dei PCB in elevate concentrazioni nelle zone artiche: i composti evaporano nelle zone caldo-temperate, quindi vengono trasportati, a mezzo di moti convettivi dipendenti da fattori climatici, verso le zone polari dove tendono invece a condensare. Qui persistono per la bassa intensità dei fenomeni di trasporto che dovrebbero ripulire naturalmente il sistema. La loro scomparsa è legata prevalentemente a due fenomeni:

1. sequestro in comparti ambientali con ridotta capacità di scambio con altri sistemi. E' funzione diretta dell'idrofobicità delle molecole e funzione inversa della loro volatilità;
2. biodegradazione atmosferica per le molecole libere. Diviene problematica quando i PCB sono adsorbiti sul particolato solido.

3.3. I Pesticidi Organoclorurati

Introduzione

Tutti i pesticidi hanno rilevanza sull'inquinamento delle acque, non solo quelle dolci ma soprattutto di quelle marine.

I pesticidi arrivano in mare in genere perché trasportati dai fiumi, dove scaricano (in alcuni casi anche illegalmente) gli stabilimenti produttivi, industriali o artigianali, o per dilavamento superficiale dei terreni coltivati o da coltivare.

Pesticidi organoclorurati

Tra tutte le famiglie di pesticidi esistenti consideriamo i pesticidi organoclorurati, di cui l'esponente più noto è il dlorodifenildicloroetano (o 1,1,1-tricloro-2,2-bis(4-clorofenil)etano), noto in tutto il mondo con la sigla di DDT.

Attraverso studi compiuti a metà degli anni sessanta su soggetti esposti al DDT si è scoperto che questo insetticida, oltre ad essere tossico per i mammiferi, può anche indurre il cancro, queste nuove conoscenze hanno portato a proibirne l'uso negli Stati Uniti nel 1972.

Anche altri pesticidi clorurati in seguito questa scoperta sono stati tolti dal commercio o il loro uso è stato ridotto a casi sotto rigido controllo.

La pericolosità di questi inquinanti risiede nella loro bioaccumulabilità e nella persistenza nell'ambiente essendo composti scarsissimamente biodegradabili.

Questi veleni infatti sono destinati ad entrare nella catena alimentare e si concentrano negli organismi marini ai vari livelli trofici, provocando effetti dannosi sia da un punto di vista riproduttivo, sia a livello del sistema endocrino e immunitario. Gli effetti più gravi si manifestano negli organismi che si trovano ai livelli più elevati della catena trofica e quindi nell'uomo, attraverso l'alimentazione con prodotti provenienti dall'ambiente marino.

La pericolosità di questi composti si estende anche ai sottoprodotti della loro produzione e ai composti derivanti dalla loro degradazione o trasformazione ad opera di organismi viventi o di reazioni chimiche. Un esempio importante è

l'esaclorobenzene (HCB) che da come sottoprodotto di produzione le benzodiossime policlorurate, più note con il nome di diossine, che sono uno degli inquinanti con la più alta pericolosità e tossicità conosciuti.

L'effetto sull'uomo dei pesticidi organoclorurati è principalmente l'azione tossica a carico del SNC, dove questi composti interferiscono con i flussi di cationi attraverso le membrane cellulari nervose, incrementando l'irritabilità neuronale. Questo effetto si manifesta principalmente con convulsioni, qualche volta limitate a un attacco mioclonico, ma spesso espresso con attacchi violenti. Le convulsioni possono causare morte poiché interferiscono con gli scambi di gas polmonari e generano una grave acidosi metabolica. Vari disturbi della sensazione, coordinazione e funzioni mentali sono anche caratteristici di un avvelenamento acuto da organoclorurati. Alte concentrazioni nei tessuti aumentano l'irritabilità miocardica, predisponendo ad aritmie cardiache. Quando le concentrazioni nei tessuti scendono al di sotto dei livelli di soglia, si verifica una ripresa dall'avvelenamento.

In questo lavoro si sono considerati i pesticidi clorurati più comuni, DDT e metaboliti (DDX), Aldrin, Endrin, Dieldrin, Chlordane, Esaclorobenzene (HCB), Lindano, Heptachlor.

DDX

sotto il nome di DDX vengono raggruppati DDT e i suoi prodotti di degradazione quali che sono DDE (1,1-dicloro-2,2-bis(p-diclorodifenil)-etilene) e DDD (1,1-dicloro-2,2-bis(p-clorofenil) etano); questi composti hanno caratteristiche e comportamenti simili quindi si descriverà solo il DDT.

DDT (2,2-bis(p-clorofenil)-1,1,1-tricloroetano

Impiegato come insetticida messo al bando negli anni Settanta.

Il DDT interferisce con lo scambio di ioni di Na^+ e K^+ attraverso la membrana dell'assone, provocando la distruzione del sistema nervoso. Problemi respiratori potrebbero derivare dalla depressione del riflesso respiratorio.

Il DDT è metabolizzato molto lentamente negli animali. I prodotti di degradazione iniziali nei mammiferi sono 1,1-dicloro-2,2-bis(p-diclorodifenil) etilene (DDE) e 1,1-dicloro-2,2-bis(p-clorofenil) etano (DDD), che si accumulano facilmente nei tessuti adiposi. Livelli di DDT o metaboliti potrebbero essere presenti in tessuti grassi (cellule adipose, cervello) fino a parecchie centinaia di volte superiori a quelli riscontrati nel sangue.

Studi hanno mostrato aumenti significativi delle alterazioni cromosomiali in lavoratori che erano esposti direttamente o indirettamente al DDT. Questo mostra che il DDT è potenzialmente genotossico per gli uomini, ma non sembra essere fortemente mutageno.

Il DDT è ritenuto essere ragionevolmente cancerogeno per l'uomo in relazione all'evidente cancerogenicità negli esperimenti su animali.

Questo composto può avere effetti dannosi sul sistema riproduttivo; si pensa che molti di questi effetti osservati siano il risultato della distruzione del sistema endocrino (ormonale). Potrebbe, inoltre, avere anche effetti tetratogeni.

Il DDT è assorbito rapidamente nel tratto gastrointestinale con aumento dell'assorbimento in presenza di grassi e tende ad accumularsi nel corpo causando effetti cronici sul sistema nervoso, fegato, reni e sistema immunitario.

A causa della persistenza del DDT e dei suoi metaboliti nell'ambiente, livelli molto bassi possono continuare a permanere negli alimenti cresciuti in alcune aree ove era stato usato precedentemente. E' possibile che, in conseguenza dei modelli internazionali di utilizzo e vendita del DDT, i livelli di esposizione alimentare possano aumentare nel tempo. Gente che mangia pesce contaminato con DDT o metaboliti potrebbe anche essere esposta a causa del bioaccumulo del composto nel pesce. Anche se gli attuali livelli di alimentazione sono abbastanza bassi, le esposizioni passate e presenti possono portare ad un accumulo nel corpo a causa della sua persistenza.

Aldrin, Endrin, Dieldrin

Questi pesticidi sono strutturalmente correlati, infatti endrin e dieldrin (che sono isomeri tra loro) non sono altro che epossidi dell'aldrin.

Tutti questi composti sono insetticidi; aldrin è impiegato per controllare gli insetti del terreno e contro le termiti; dieldrin è impiegato contro gli insetti del suolo e contro i vettori di malattie; endrin è impiegato contro gli insetti del cotone dei cereali e contro i roditori.

Il meccanismo d'azione di questi composti è a carico del sistema nervoso centrale. Endrin, Aldrin e dieldrin interferiscono con gli scambi degli ioni Na^+ e K^+ attraverso la membrana dell'assone portando alla distruzione del sistema nervoso centrale.

La tossicità legata all'esposizione di questi composti può avere effetti negativi sui sistemi nervoso e riproduttivo, possono anche danneggiare fegato e reni.

L'importanza dello studio di questi pesticidi deriva dal fatto di essere composti molto persistenti nell'ambiente e sospetti di possedere un'elevata cancerogenicità. Il loro uso oggi è proibito. Aldrin e Dieldrin possono subire un'ossidazione microbica a Endrin una volta dispersi nell'ambiente.

Chlordane

È un insetticida a largo spettro utilizzato in diverse colture e contro le termiti. Viene utilizzato anche per proteggere il caffè difatti si può trovare nei pressi dei porti un cui si commercia in questo prodotto.

Meccanismo d'azione: la principale conseguenza dell'esposizione a Chlordane è a carico del sistema nervoso centrale. Tale composto interferisce con lo scambio degli ioni Na^+ e K^+ attraverso la membrana dell'assone, provocando la distruzione del sistema nervoso.

Studi in vivo e in vitro hanno rivelato due vie di biotrasformazione del Chlordane e hanno mostrato che i principali metaboliti sono: trans-chlordane, 1,2-diclorochlordene, ossichlordane, 1-idrossi-2-clorochlordene, 1-idrossi-2-cloro-2,3-epossi chlordene, e 1,2-trans-diidrossi diidrochlordene. Inoltre il fegato umano può trasformare il trans-nonachlor in trans-chlordane.

Il Chlordane è un probabile cancerogeno per l'uomo e può provocare malformazioni nei feti.

Esaclorobenzene (HCB)

E' usato come fungicida fumigante, inoltre viene usato nella produzione di fuochi d'artificio e spesso risulta come sottoprodotto della produzione industriale. Oltre a colpire il sistema nervoso, come gli altri pesticidi clorurati, l'HCB colpisce anche il fegato, i reni, la milza e i polmoni.

Tende a depositarsi direttamente nel grasso corporeo.

L'esaclorobenzenene, come molti altri pesticidi, è un possibile composto cancerogeno e a esposizioni molto elevate può indurre la pofiria nell'uomo.

L'HCB è un composto molto persistente, la sua bassa solubilità porta a concentrarsi nei suoli. A causa della sua lunga persistenza, tuttavia, spesso la bassa mobilità può portare ad un trasporto apprezzabile; perciò HCB potrebbe rappresentare un rischio per la contaminazione delle falde acquifere.

Lindano (g-HCH, g-esaclorocicloesano)

Impiegato come insetticida, il lindano come i suoi isomeri sono dei possibili cancerogeni anche se con tossicità leggermente diversa tra loro.

Vista la sua pericolosità l'uso del prodotto è limitato: alla disinfestazione dei cereali immagazzinati, alla concia delle sementi e alla disinfestazione del terreno destinato alla barbabietola da zucchero.

Modalità d'azione: Agisce per contatto, ingestione ed asfissia: interferisce sul sistema nervoso centrale, inibendo il mesoinositolo, fattore vitaminico essenziale per le fibre nervose.

Il Lindano è un composto altamente tossico e reca la scritta PERICOLO sull'etichetta. Esso è uno stimolatore del SNC con sintomi che solitamente si presentano nel giro di 1 ora. Il Lindano può essere assorbito per inalazione, ingestione diretta e per contatto cutaneo

Questo composto è molto stabile sia in ambienti di acqua dolce che in acqua salata. Scompare dall'acqua per meccanismi secondari come l'assorbimento da

parte dei sedimenti, biodegradazione e assorbimento da parte di pesci mediante le branchie, la pelle e il cibo.

Heptachlor e Heptachlor epossido

L'Heptachlor – o eptacoloro - viene impiegato come insetticida e uccide gli insetti per contatto o in seguito ad ingestione. È utilizzato soprattutto contro insetti del suolo e termiti, talvolta però anche contro la malaria e i parassiti delle piante. Nell'uomo induce un'ipereccitazione del sistema nervoso centrale e provoca danni al fegato. È sospettato d'essere cancerogeno. È inoltre ritenuto responsabile della decimazione di numerose popolazioni di uccelli. L'eptacoloro permane inalterato nel terreno fino a 2 anni prima di dimezzarsi.

L'eptacoloroeossido ha le stesse caratteristiche dell'eptacoloro con il tempo questo composto tende a trasformarsi in eptacoloro.

3.4 Arricchimento Naturale Dei Contaminanti

In natura si assiste continuamente a processi di dispersione e riaggregazione dei contaminanti; per certe sostanze, gli organismi viventi rappresentano un ottimo punto d'incontro (Paoletti et al., 1998).

Gli organismi, durante i processi di scambio di materia e di energia con l'ambiente circostante, possono dare luogo a fenomeni di arricchimento di sostanze in tracce, sia che esse siano derivanti da fenomeni di contaminazione, sia che esse siano dei normali costituenti del sistema. I fenomeni di arricchimento possono essere reversibili o praticamente irreversibili e, per un certo livello di esposizione, dipendono dal tempo di contatto tra l'organismo e la sostanza. Le sostanze maggiormente accumulabili necessitano di tempi di esposizione relativamente lunghi. Organismi a vita breve, come alghe monocellulari e batteri, sono meno soggetti ai processi di arricchimento, mentre gli organismi superiori a vita lunga possono andare in contro a fenomeni di bioconcentrazione, bioaccumulo e biomagnificazione.

Bioconcentrazione

Con questo termine si intendono fenomeni di arricchimento attraverso le stesse superfici che consentono gli scambi di gas respiratori. La sostanza entra per la via dell'ossigeno (branchie, polmoni, pelle, foglie), raggiunge i fluidi circolanti e di qui gli eventuali comparti di immagazzinamento e, più o meno efficacemente, viene metabolizzata ed escreta. Per misurare l'efficienza di cattura da parte dell'organismo, si conducono esperimenti di cinetica di accumulo nei quali la concentrazione del contaminante nell'acqua o nell'aria vengono mantenute costanti, a livelli tali da non comprometterne la funzionalità e si determina il variare della concentrazione accumulata dall'organismo nei vari tempi, ricavandone una curva del tipo di quella in figura 3.15.

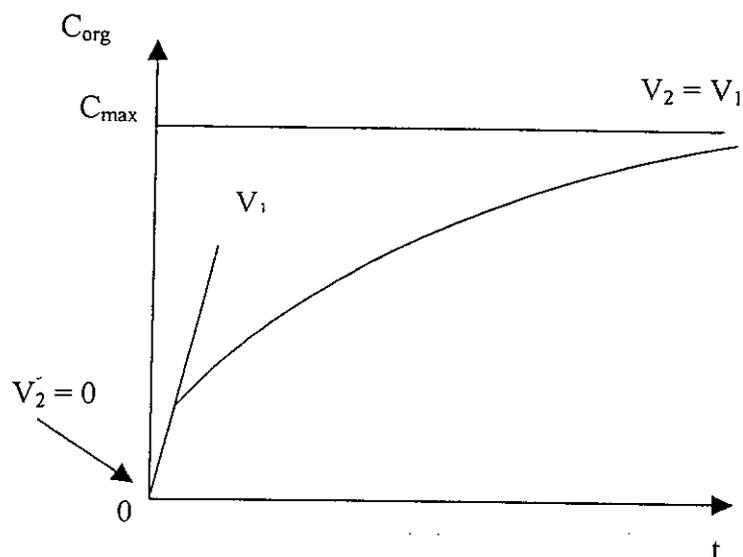


Figura 3.15: Schema di cinetica di saturazione. V_1 e V_2 indicano rispettivamente la velocità d'ingresso e di eliminazione dell'organismo. C_{org} è la concentrazione del contaminante nell'organismo che cresce sino a quando V_2 bilancia V_1 .

Un semplice schema per introdurre approcci quantitativi per lo studio della bioconcentrazione è quello riportato in figura 3.16.

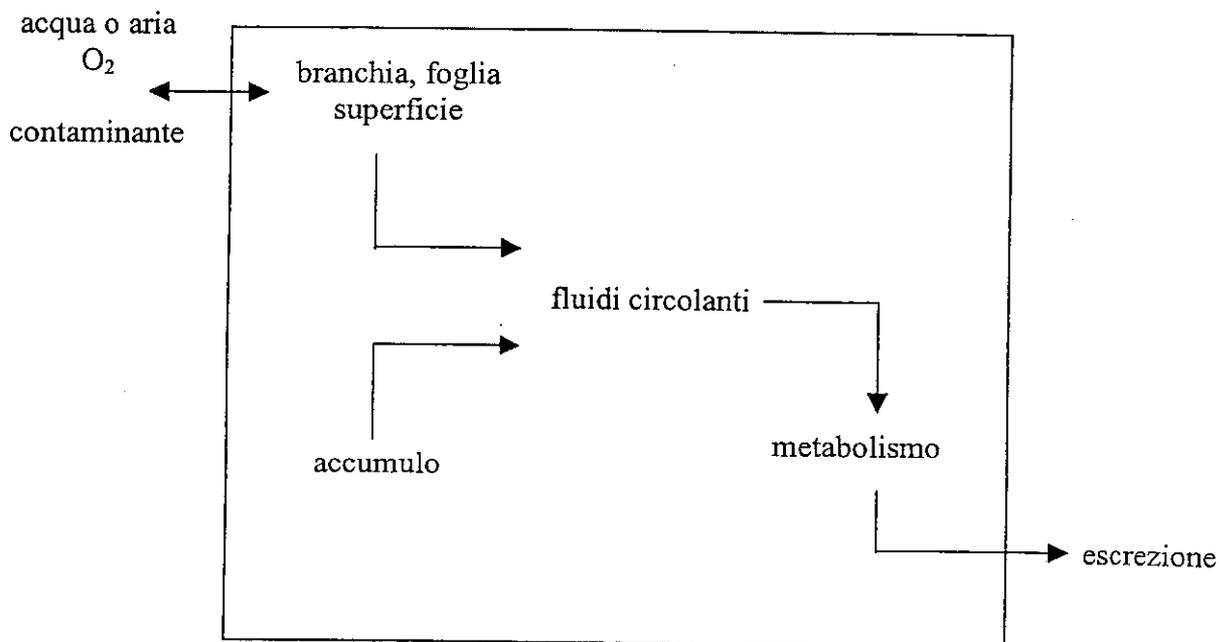


Figura 3.16: Bioconcentrazione: schema generale.

Biomagnificazione

Solo quando si dimostra che la via alimentare è preponderante sulle altre, e su quella respiratoria in particolare, si può parlare di biomagnificazione. È inoltre necessario che le prede siano meno ricche della sostanza in esame dei predatori. In queste condizioni è possibile introdurre il concetto di biomagnificazione, ovvero di accumuli crescenti man mano che si passa dalle prede ai predatori.

Bioaccumulo

Si indica con questo termine l'arricchimento della sostanza negli organismi viventi per qualunque via (respirazione, ingestione di cibo, contatto). La bioconcentrazione è il risultato netto dei processi di accumulo ed escrezione. La sua importanza dipende da fattori chimico-fisici e fisiologici. Nella figura 3.17 ne viene illustrato lo schema generale

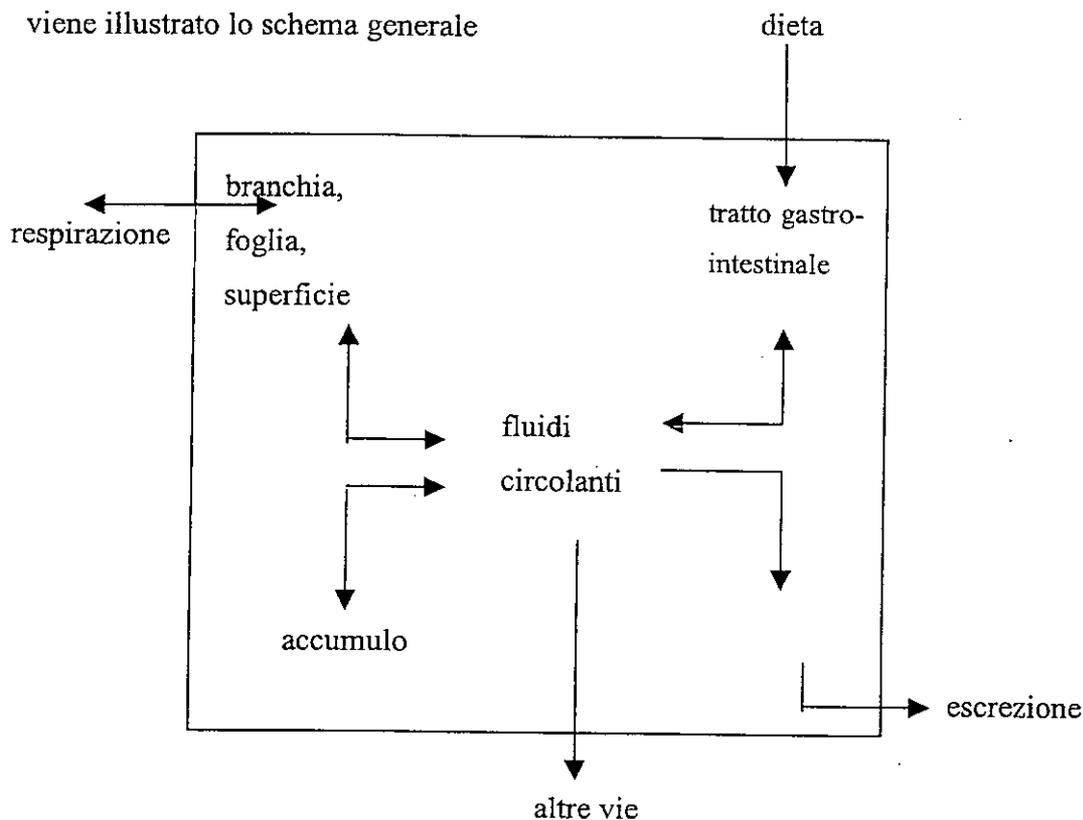


Figura 3.17: Schema generale per i fenomeni di bioaccumulo.

Mentre i processi di bioaccumulo e di biomagnificazione sono più complicati da prevedere, per la bioconcentrazione esistono da tempo degli strumenti predittivi. Nel caso di sostanze organiche che si bioconcentrano attraverso meccanismi di diffusione passiva nei sistemi acquatici il K_{ow} (coefficiente di partizione ottanolo- acqua) può essere usato per calcolare il fattore di bioconcentrazione BCF.

Per il pesce, il fattore di bioconcentrazione pesce/acqua, $BCF_{f/w}$ può essere calcolato come segue:

$$BCF_{f/w} = L K_{ow}$$

dove L rappresenta la frazione lipidica.

I fattori di bioconcentrazione possono indicare se le sostanze sono o meno suscettibili di un elevato arricchimento nelle matrici biologiche, con tutte le implicazioni che da questi fenomeni possono derivare.

Questo parametro (K_{ow}) è usualmente considerato per descrivere le caratteristiche idrofobiche di una molecola organica. Esso viene utilizzato per la stima della bioconcentrazione di sostanze idrofobiche ed è strettamente correlato al K_{oc} (coefficiente di adsorbimento su carbonio organico), utile nella misura dell'affinità di sostanze non polari con suoli e sedimenti.

La distribuzione all'equilibrio di un composto organico tra acqua e ottanolo è quindi un parametro utile per predire la tendenza del composto a ripartirsi tra acqua, lipidi animali, sedimenti e materiale organico del suolo.

Idrocarburi policiclici aromatici (IPA), policloro bifenili (PCB) e pesticidi clorurati hanno tutti valori di K_{ow} tali da rendere significativi fenomeni di bioaccumulo.

3.5 La Valutazione Del Danno Al DNA: Il Metodo Della Cometa

Il test della “cometa” o SCGE (single cell gel electrophoresis) è un test che si è dimostrato utile per valutare il danno alle sub-strutture del DNA di organismi di ambienti acquatici.

Ci sono più ragioni per le quali necessitiamo di una miglior comprensione del livello d’esposizione e dell’impatto di sostanze genotossiche nell’ambiente.

Le più ovvie sono connesse alla carcinogenesi (Miller et al., 1977), un processo che coinvolge molteplici alterazioni genetiche che alla fine inducono ad una proliferazione incontrollata di cellule (Weinberg et al., 1989). Quanto detto risulta importante anche per le specie di pesci ed è indicato dal ritrovamento di mutazioni caratteristiche nel gene ras, in tumori di pesci indotti da composti xenobiotici.

Le sostanze chimiche genotossiche a causa della loro alta reattività, possono inoltre contribuire ad altre risposte tossiche inclusa l’ereditarietà di difetti attraverso mutazioni di linee cellulari germinali ed effetti teratogeni. Da quanto detto, ne consegue che l’interferenza con la riproduzione può avere impatti anche maggiori a livello di popolazioni d’organismi piuttosto che effetti carcinogenici.

Kurelec (Kurelec, 1993) sottolinea l’importanza del danno al DNA come contributo alla tossicità irreversibile oltre che per effetti di cancerogenesi.

Il danno ossidativo al DNA può essere indotto come effetto secondario da inquinanti come composti Nitroaromatici e Policlorobifenili che possono produrre specie ossidative attraverso reazioni redox dei metaboliti. L’impatto di questo danno è influenzato dallo stato antiossidante dell’organismo e dalla capacità riparativa del DNA.

La valutazione dell’esposizione delle specie marine agli agenti tossici è complicata dalla presenza di molti inquinanti potenziali che agiscono come misture complesse. Inoltre le variazioni stagionali delle condizioni ambientali, della dieta e quelle ormonali possono avere un’influenza drammatica sul sistema enzimatico che attiva e detossifica i genotossici. Queste informazioni sono informative a riguardo delle modificazioni iniziali del DNA, ma le conseguenze

possono solo essere assunte sulla base di ciò che è conosciuto sul potenziale di lesioni mutageniche che causano il cancro.

Misure specifiche agli addotti nel biomonitoraggio sono limitate dove gli agenti sono multipli e sconosciuti.

Da molti anni è stato riconosciuto che l'esposizione a carcinogeni può condurre ad una perdita d'integrità del DNA e attualmente c'è un maggior interesse nel determinare il livello di rottura del filamento di DNA (DNA strand breakage), quale indicatore sensibile della genotossicità. Infatti, la produzione di rotture al filamento di DNA è ben correlata con le proprietà mutageniche e carcinogeniche degli inquinanti ambientali con diverse strutture.

La rottura del filamento singolo o doppio di DNA (single o double strand breaks) può avvenire secondo diversi meccanismi. In aggiunta alla produzione di tali rotture per effetto di radiazioni ionizzanti, esse possono essere prodotte dalla luce ultravioletta, dall'ossigeno reattivo e da altri intermediari reattivi. Rotture del filamento possono derivare dall'azione degli enzimi di recisione-riparazione, di conseguenza la misura della rottura del filamento offre un mezzo per misurare l'esposizione ad un ampio intervallo di composti chimici genotossici che possono modificare il DNA in vario modo.

In bibliografia è dimostrato che varie cellule isolate da specie acquatiche rispondono ad un intervallo d'agenti che agiscono direttamente o indirettamente.

La rottura del filamento viene causata anche da composti che richiedono un'attivazione metabolica, in molti casi le cellule trattate in vitro lo dimostrano. Altrettanto si è visto nel caso delle esposizioni in vivo. In vivo si ha un maggior numero di rotture al filamento singolo, ciò spinge a considerare questa procedura anche per i parametri che fornisce.

Il danno al DNA è sufficientemente persistente da essere conservato durante l'isolamento delle cellule.

I fattori biochimici e fisici che possono influenzare la genotossicità nei differenti individui viene discussa da Zaleski et al., 1991. In particolare, per quanto riguarda i pesci, gli enzimi che metabolizzano i composti e che sono coinvolti nell'attivazione e detossificazione sono noti per essere drammaticamente

dipendenti dalle condizioni ambientali. Importante è l'influenza della temperatura, dello stress, della dieta e della fase riproduttiva.

Laddove la variabilità intercellulare può complicare l'interpretazione per altri test, il Saggio Comet (o Test della Cometa, Comet assay, Comet test) rappresenta un metodo vantaggioso, perché l'effetto delle sub popolazioni e dell'inter variabilità può essere riconosciuto senza essere mascherato da cellule che non rispondono.

Il Test della Cometa è un test molto più sensibile di altri test di clastogenicità (es. "micronucleus assay").

Si tratta di un saggio volto ad evidenziare eventuali rotture al filamento di DNA attraverso l'analisi di singole cellule sottoposte a gel elettroforesi.

L'analisi qualitativa e quantitativa di tale danno avviene attraverso il rilevamento d'opportuni parametri misurati da immagini ottenute al microscopio a fluorescenza, descritti nell'allegato B.

4. INDIVIDUAZIONE DI SORGENTI POTENZIALI DI INQUINANTI ORGANICI PBT

Le sorgenti potenziali di inquinanti organici persistenti, bioaccumulabili e tossici sulla linea costiera regionale e, più in particolare, nel golfo di Trieste, sono costituiti da:

- aree portuali industriali e diportistiche,
- aree urbane ed industriali prospicienti alla costa,
- diffusori degli impianti di trattamento dei reflui urbani ed industriali,
- interramenti sulla linea di costa per i quali - in tempi passati - sono state impiegate anche ceneri e rifiuti,
- aree agricole nell'entroterra in cui vengono impiegati intensivamente pesticidi, poi dilavati e trasportati in mare,
- deposizioni atmosferiche a seguito del trasporto di lungo e breve raggio di inquinanti.

La scelta dei punti di campionamento rappresenta uno snodo fondamentale di quest'indagine sulla sicurezza alimentare: un campionamento significativo, infatti, è alla base di dati rappresentativi.

La selezione dei siti di campionamento è focalizzata all'individuazione presso la linea costiera regionale e, più in particolare, del golfo di Trieste, di punti sensibili in termini di attività antropiche differenziate: la cernita dei siti mirava a identificare aree caratterizzate da insediamenti industriali e da marcate attività portuali, oppure aree contraddistinte da apporti di diffusori di impianti di trattamento fognari o del dilavamento di terreni agricoli coltivati intensivamente o estensivamente. Dalla bibliografia scientifica è noto che tali attività si differenzino per qualità e quantità delle emissioni nei diversi comparti ambientali, e si distinguano per tipologia e concentrazione di inquinanti emessi.

Conseguentemente sono stati effettuati numerosi campionamenti in 11 siti, localizzati in diverse aree del golfo di Trieste, aventi le coordinate riportate in tabella 4.1 ed indicati nella figura 4.1. Tali punti sono stati ritenuti rappresentativi di condizioni ambientali caratteristiche presenti nel golfo.

Si è ritenuto di effettuare i campionamenti sia in aree nelle quali l'inquinamento antropico è considerato evidente (Ferriera, Tubone, Sacchetta, Porto Vecchio), sia in aree vocate alla pesca, (Punta Olmi, Costiera, Monfalcone, Sistiana, Secca di S. Croce, Vilaggio del Pescatore e Diga Luigi Rizzo). In particolare, tenendo conto della "Classificazione delle zone di produzione e stabulazione dei molluschi bivalvi vivi" del Friuli Venezia Giulia¹, all'interno delle classificate Zone A² sono stati individuati 5 punti (Punta Olmi, Costiera, Sistiana, Vilaggio del Pescatore e Diga Luigi Rizzo).

Il sito di campionamento di **Monfalcone** (presso la baia di Panzano) vuole essere indicativo dell'apporto di inquinanti a mare fornito da un insediamento urbano, altamente industrializzato, e dei relativi scarichi, inoltre, esso è anche prossimo alle foci del fiume Isonzo.

Il punto denominato **Vilaggio del Pescatore** è stato individuato quale area di produzione di mitili (Zona A), nonché area votata alla pesca. In particolare si è inteso valutare la potenziale azione del Canale del Lisert, il quale porta a mare parte degli scarichi della Zona Industriale del Lisert, nonché gli scoli dei cantieri navali e delle marine posti sulle sue sponde.

Un ulteriore aspetto basilare è localizzare dei punti di campionamento cosiddetti bianchi, cioè dei siti in cui si presuppone a priori un tenore d'inquinamento sostanzialmente basso. A tal proposito, i punti denominati **Costiera** e **Sistiana** si sono presi in considerazione in virtù di una mancata evidente fonte d'inquinamento di PBT nella cronistoria dei due siti in questione. Un ulteriore aspetto che esorta a campionare in queste due aree, è la presenza di attività di mitilicoltura.

È stato preso in considerazione un punto discosto dalla costa che risentisse il meno possibile di influssi antropici diretti, e nel quale fossero presenti i mitili di superficie. Tale punto è stato individuato nel Dosso di **Santa Croce** posto a 3

¹ (Decreto legislativo 530/1992 - Deliberazione della Giunta Regionale 30 dicembre 2004, n. 3585.)

² I molluschi bivalvi provenienti da zone di produzione che possiedono i requisiti prescritti per la zona A possono essere destinati al consumo umano diretto.

miglia dal porticciolo di Filtri d'Aurisina, lungo la congiungente Punta Sdobba e Molo Fratelli Bandiera Fanale.

Il punto di campionamento denominato "**Tubone**" è caratterizzato da una continua immissione di scarichi provenienti dal principale impianto di trattamento di reflui fognari di Trieste.

Il punto di campionamento denominato **Porto Vecchio** è stato individuato quale sito portuale e quindi area inquinata, seppur attualmente l'attività è limitata. L'area è soggetta ad uno scarico fognario, all'attività a terra (rimessaggio di veicoli e impianti per il sollevamento e la movimentazione) e a quella a mare, dove la contaminazione accumulatasi nel tempo per immissione di inquinanti dovuti al traffico di imbarcazioni è forte.

Il punto di campionamento denominato **Sacchetta** è stato scelto quale testimonianza di un sito nel quale la contaminazione si è accumulata nel tempo, infatti, l'immissione di inquinanti è perdurata nel tempo a causa del forte traffico di imbarcazioni di tipo diportistico e delle relative operazioni di manutenzione, oltrecchè sversamenti di carburanti, olii di vario genere e vernici. Tale situazione è aggravata dal limitato ricircolo d'acqua e dalla ridotta profondità dell'areale.

Si è scelto, inoltre, di analizzare uno dei punti di confine tra le aree definite dalla Capitaneria di Porto come idonee alla pesca e quelle interdette alla pesca, sia per motivi sanitari che ragioni di operatività portuale: la **Diga Luigi Rizzo** (di seguito Diga). È da tenere presente che con la sopraccitata Delibera della Giunta Regionale entrambi i lati della diga sono stati classificati e per la maggior parte come Zona A (dove è stato effettuato il campionamento) e solo in minima parte come B.

Il sito denominato **Ferriera** è situato in prossimità dell'impianto di Servola uno degli insediamenti industriali più inquinati della Regione Friuli Venezia Giulia, con emissioni in atmosfera (che ricadono anche nel golfo) ed in mare. E' noto, dalla bibliografia scientifica e dai dati dell'ARPA, che nelle emissioni della Ferriera sono presenti PBT.

Il sito denominato **Punta Olmi** pur essendo caratterizzato dalla presenza di mitilicoltura presenta potenziali criticità, in quanto il litorale ha subito un'opera di

ripascimento, a mezzo di materiali di riporto potenzialmente contaminati, derivati dall'escavo di un complesso cantieristico.

Il sito denominato **Gaslini**, situato nell'area portuale di Trieste, è stato impiegato nei campionamenti necessari alla messa a punto delle analisi ecotossicologiche.

Bisogna tenere conto che per quanto riguarda i pesticidi, sono state individuate alcune potenziali sorgenti come indicato nella cartina sottostante, che evidenzia gli estuari più rilevanti del Golfo di Trieste. E' noto, infatti, che fiumi e torrenti, nell'atto di dilavare i terreni circostanti al proprio letto di scorrimento, possono trasferire in mare importanti quantità di composti chimici impiegati nell'entroterra.

ID	LOCALIZZAZ	POSIZIONAM
1	MONFALCONE	N45 46.203 E13 34.407
2	VILLAGGIO DEL PESCATORE	N45 46.119 E13 35.048
3	SISTIANA	N45 45.761 E13 37.918
4	DOSSO DI SANTA CROCE	N45 41.866 E13 36.985
5	COSTIERA	N45 42.561 E13 42.229
6	SCARICO REFLUI URBANI	N45 38.615 E13 40.869
7	PORTO VECCHIO	N45 39.573 E13 45.750
8	SACCHETTA	N45 38.566 E13 45.317
9	DIGA RIZZO	N45 37.710 E13 44.082
11	FERRIERA DI SERVOLA	N45 37.413 E13 46.339
12	PUNTA OLMI	N45 36.620 E13 43.615
13	GASLINI	N45 37.944 E13 46.448

Tabella 4.1: Coordinate dei siti di campionamento.

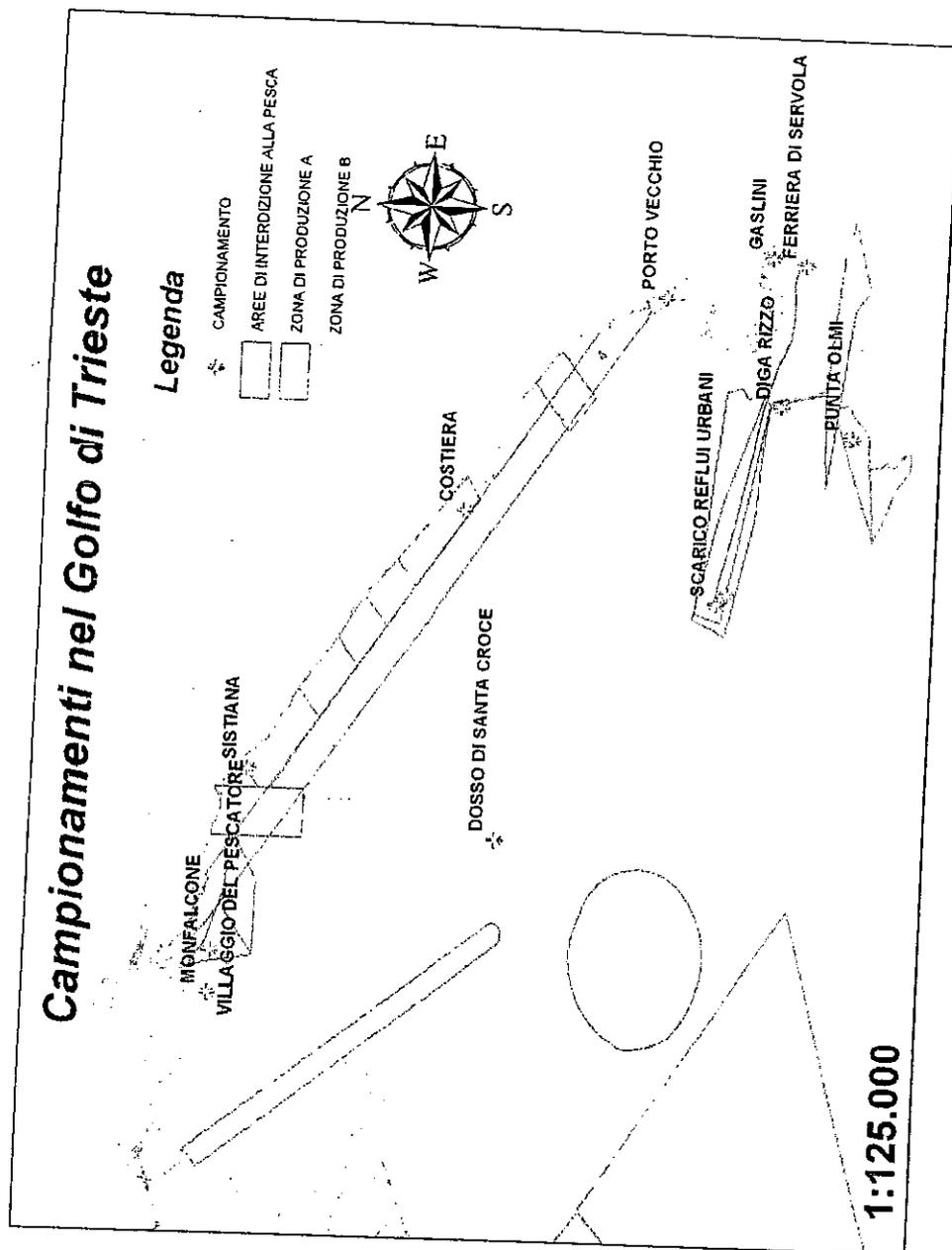


Fig. 4.1: Punti di campionamento, aree di interdizione alla pesca, zone di produzione A e B (mitilcolture)

5. LE MATRICI ANALITICHE

Per le indagini sulla contaminazione chimica dei prodotti della pesca e della maricoltura, sono state considerate tre specie di organismi (*Squilla mantis*, *Gobius niger*, *Mytilus galloprovincialis*) a diversi livelli della catena trofica, che hanno la caratteristica di avere una marcata stazionarietà; questa caratteristica consente di associare la concentrazione di inquinanti determinata negli organismi alla contaminazione dell'ambiente in cui essi sono stati campionati.

Gli organismi che vivono sui fondali (*Squilla mantis* e *Gobius niger*), in cui i contaminanti PBT tendono ad accumularsi, e gli organismi filtratori (*Mytilus galloprovincialis*) che assumono notevoli quantità di materiale particellato su cui i PBT possono essere adesi, rappresentano degli eccellenti punti di controllo per valutare la contaminazione ambientale. L'impiego delle nasse per la raccolta di *Squilla mantis* e *Gobius niger* rappresenta un conveniente mezzo di campionamento.

Oltre alle analisi su organismi viventi sono state effettuate analisi sul sedimento superficiale, campionato tramite carotiere.

Le indagini tossicologiche sono state focalizzate su *Squilla mantis* e *Gobius niger*.

5.1 *Squilla Mantis* (Pannocchia)

La Pannocchia è un crostaceo di medie dimensioni con corpo allungato, e con evidenti creste mediane longitudinali lungo il torace e l'addome. La testa, ricoperta da un robusta corazza (carapace) arrotondata agli angoli, è provvista di due paia di antenne e di altre due appendici mobili, su cui sono collocati gli occhi, a forma di rene. Ai lati della testa sono presenti due pseudochele costituite ciascuna da un articolo mobile esterno munito di 6 spine e di una parte interna con presenza di piccoli denticoli. Il torace è costituito da cinque segmenti liberi, mentre l'addome da sei, con l'ultimo che termina con una sorta di coda (telson).

Sono presenti numerose appendici, di cui alcune costituiscono arti per camminare (pereiopodi). I segmenti addominali sono caratterizzati da due creste centrali spinose, in particolare nell'ultimo segmento addominale in cui le spine posteriori sono più pronunciate. La parte terminale dell'addome (telson) è munita di dentelli e di due grosse macchie centrali violacee, circondate da un anello biancastro. La colorazione del corpo è bianco-giallastra con sfumature violacee. La lunghezza massima raggiunta da questa specie è di 20 cm, comuni sono individui da 12-18 cm (figura 4.1). La Pannocchia è una specie che vive su fondi sabbiosi o fangosi a profondità compresa tra 20 e 200 m, ma più comunemente a profondità minori di 50 m.

La Pannocchia è ampiamente presente lungo tutte le nostre coste, ma in particolare in quelle dell'alto e medio Adriatico ed in alto Tirreno. La Squilla mantis è diffusa nell'intero Mediterraneo ed è presente inoltre nella parte est dell'Oceano Atlantico, dalle Isole Britanniche all'Angola.

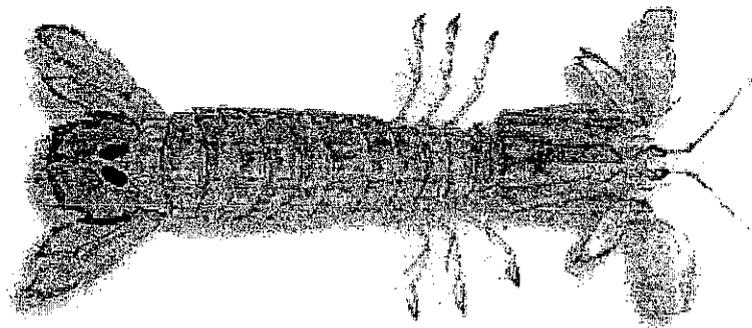


Figura 5.1. Squilla mantis.

La Squilla mantis è solitaria e fossoria, cioè vive durante il giorno in gallerie scavate nel fondo, da cui esce, o a causa di forti mareggiate che ne distruggono la tana, o durante la notte per andare alla ricerca di cibo o per scopi riproduttivi.

La Pannocchia ha sessi separati. La riproduzione è in primavera. La

fecondazione è interna. I maschi infatti fecondano le femmine introducendo nel corpo i gameti (sperma) mediante arti modificati in strutture filamentose (3° paio di pereopodi). L'inizio del periodo di prima maturazione delle gonadi maschili e femminili (gameti) è ad una lunghezza superiore a 10 cm. Nelle femmine, la maturazione delle uova è riconoscibile dall'esterno, dall'ingrossamento delle gonadi (uova) chiaramente visibile sul dorso in trasparenza. Dopo la schiusa delle uova, le larve conducono breve vita pelagica per poi mutare e prendere contatto con il fondo.

La Squilla mantis si nutre di piccoli pesci, che cattura principalmente durante le ore notturne.

E' oggetto di pesca professionale essenzialmente con reti a strascico ed attrezzi fissi. Le catture sono più abbondanti nelle ore notturne e dopo un periodo di cattivo tempo.

La Pannocchia ha carni di notevole pregio, molto apprezzate, in particolare nel periodo autunno-invernale.³

³ www.federcoopesc.it/Iniziativa/Progetti/specie_ittiche/pannocchia.htm

5.2 *Mytilus Galloprovincialis* (Mitilo o Cozza)

Il mitilo 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 (figura 5.2).

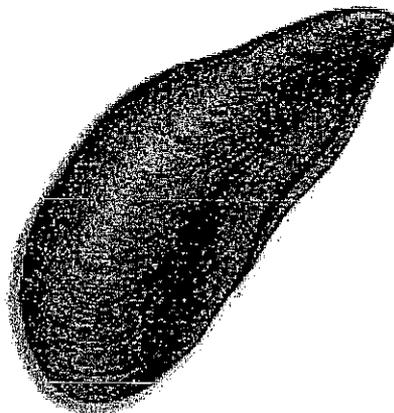


Figura 5.2. Mytilus galloprovincialis

All'interno il colore è viola-madreperlaceo e questo può variare in relazione al ciclo riproduttivo e al sesso. La colorazione degli individui maschili è bianco-giallastra, quella degli individui femminili tende al giallo-arancio. Il corpo del mitilo è molle, completamente rivestito dai lobi del mantello. 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 brunastro. Il mitilo può raggiungere la lunghezza di 11 cm, ma di regola sui mercati lo si trova di 6 cm; l'accrescimento dei mitili è più rapido in Adriatico rispetto agli altri mari italiani.

Il mitilo vive attaccato alle rocce o a substrati duri per mezzo del bisso, quel filamento o ciuffetto che esce fuori lateralmente dalle valve dell'animale; questa struttura filamentosa gli impedisce di venir spazzato via dalle forti mareggiate. Vive in golfi e vicino alla costa in aggregati molto numerosi. E' comune in Mediterraneo, Mar Nero e in Oceano Atlantico. I mitili sono allevati e solo in piccola parte sono pescati 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 riproduzione avviene a fine inverno e in autunno, quando le acque raggiungono i 15 °C.

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

La maggior parte della produzione deriva dall'allevamento.

Il mitilo è una tra le specie più diffuse e presenti sui nostri mercati; viene venduto fresco confezionato in sacchetti di rete plastificata munite di bollo sanitario, ma anche surgelato, sgusciato e preparato in conserva.

Le carni sono gustose, molto apprezzate dai consumatori; nel periodo in cui sono "pieni", i mitili hanno un sapore più dolce, in particolare quelli che vivono nelle lagune dell'Alto Adriatico.⁴

⁴ http://www.mareinitaly.it/conosciamo_v.php?id=58

5.3 *Gobius Niger* (Ghiozzo Nero)

Appartenente alla famiglia dei gobidi, è un pesce di modeste dimensioni: il maschio raggiunge una lunghezza massima di 16 cm, 14 cm la femmina (figura 4.3). Sul capo si trovano scaglie di dimensioni diverse che non sono presenti sulle guance; le labbra sono grosse e gli occhi sporgenti, il colore varia dal bruno chiaro al nero, il ventre è spesso bianco. Durante il periodo riproduttivo il colore è più scuro nel maschio mentre la femmina rimane marroncina.

Comune in tutto il Mediterraneo, vive su fondi fangosi, sabbiosi e detritici; si trova comunemente in prossimità dei porti e delle scogliere artificiali, ma può spingersi fino a profondità di 80 m. In primavera compie una migrazione riproduttiva, dal largo si sposta verso la costa.⁵

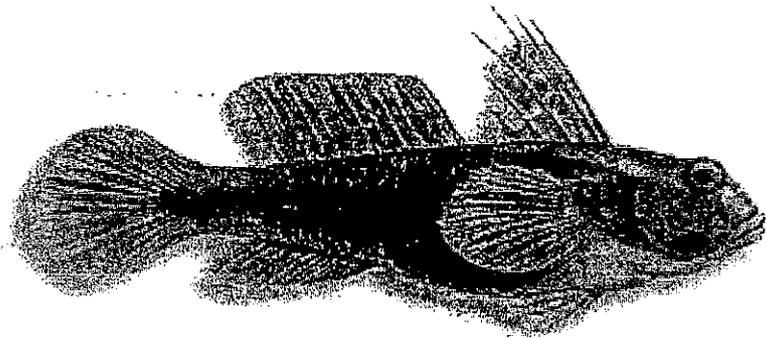


Figura 5.3. Gobius niger.

Prima della riproduzione il maschio sceglie il territorio e viene successivamente raggiunto dalle femmine: la riproduzione avviene dopo il corteggiamento; le uova restano attaccate al fondo a corpi sommersi, rocce, scogli ecc. fino alla schiusa.

Si ciba di molti organismi bentonici di piccola taglia (crostacei, piccoli pesci, gasteropodi, ecc.). Si distingue da altre specie simili per la presenza di quattro raggi più allungati nella prima pinna dorsale.

⁵ http://www.mareinitaly.it/conosciamo_v.php?id=42

5.4 Sedimenti

Sono proprio i sedimenti a rappresentare il maggior rischio per l'ambiente (Burgess et al., 1992). I sedimenti tendono ad essere contaminati da inquinanti inorganici ed organici perché questi, una volta adsorbiti od incorporati nel materiale particellato sospeso (biotico e/o abiotico), ne seguono il destino e vengono trasferiti per sedimentazione sul fondo, dove si stabilisce un equilibrio solido-liquido che, generalmente, comporta un arricchimento in elementi e composti tossici nell'acqua interstiziale (Tessier e Campbell, 1997). I sedimenti, quindi, possono agire sia da veicoli che da sorgenti di inquinamento per i sistemi acquatici, in quanto i contaminanti non sono necessariamente fissati in maniera permanente al sedimento, ma possono essere riciclati per via biologica o chimico-fisica sia all'interno del compartimento sedimentario che nell'acqua sovrastante. Di Capua et al. (2001) sottolineano come numerosi inquinanti tossici vengano normalmente riscontrati solo a livello di tracce nelle acque, mentre gli stessi elementi e composti tendono generalmente ad essere accumulati nei sedimenti anche in concentrazioni estremamente elevate. Il controllo del sedimento consente di integrare nel tempo gli apporti di sostanze chimiche, mentre le condizioni delle acque sono, allo stesso tempo, variabili e dinamiche.

Il fondo del Golfo di Trieste, nella zona di interesse, è costituito prevalentemente da calcari e/o arenarie miste a marne: il così detto flysch. Il flysch viene a formarsi con l'aggregazione di arenarie e marne, rocce costituite nel primo caso da sabbie e nel secondo caso da materiale più fine, argilloso, dato dall'alterazione chimica dei minerali originari. La roccia è ricoperta da uno strato di sabbie e argille di più recente costituzione. I materiali presenti sui fondali derivano prevalentemente dal trasporto e dalla deposizione esercitata dalle onde e dalle correnti sulle rocce e sui sedimenti costieri, come pure dalla deposizione dei resti degli organismi marini. L'aspetto generale è fangoso.

6. OPERAZIONI DI CAMPIONAMENTO

Per le analisi chimiche i campionamenti sono stati effettuati nelle 11 stazioni indicate nel capitolo 4.

Per le analisi tossicologiche i campionamenti sono stati fortemente condizionati dalla necessità di raggiungere la messa a punto del metodo della Cometa. Per questo motivo è stato necessario avere a disposizione un buon numero di organismi delle specie considerate (*Gobius niger* e *Squilla mantis*), con una buona frequenza nel tempo. Tale esigenze sono state soddisfatte inserendo tra le stazioni scelte per le analisi chimiche, la stazione denominata Gaslini. Si tratta, infatti, di una stazione di facile accesso (anche in condizioni meteorologiche poco favorevoli).

Inoltre, mentre il campionamento della specie *Gobius niger* è stato possibile quasi in tutto il periodo, per la specie *Squilla mantis* i campionamenti successivi al mese di Dicembre sono stati infruttuosi; l'abbassamento delle temperature dell'acqua hanno, infatti, negativamente influito sulla probabilità di cattura di tali organismi.

Le stazioni di cattura delle specie ittiche analizzate al fine della messa punto del metodo eco-tossicologico sono evidenziate nella figura 4.1, con i nomi: Sistiana, Gaslini, Monfalcone, Villaggio del pescatore, S. Croce, alle coordiante riportate in tabella 4.1.

Sono stati raccolti per ogni matrice analitica (*Squilla mantis*, *Gobius niger*, *Myilus galloprovincialis*) almeno 10 esemplari di pezzatura commerciale in ogni sito di campionamento. Per *Squilla mantis*, si sono considerati esemplari di lunghezza 12-15 cm, per *Gobius niger* esemplari di lunghezza 10-12 cm, per *Myilus galloprovincialis* individui di lunghezza 5-8 cm.

I prelievi sono stati eseguiti dall'Unità operativa "Pesca e biologia" costituita da: P.S.C.P. LISERT a.r.l. e P.S.C. Ecoscreen a r.l..

Le operazioni di campionamento dei sedimenti possono essere svolte con benna, oppure con carotiere, in funzione del tipo di indagine progettata: la benna

fornisce campioni di sedimento superficiale, il carotiere consente il prelievo di carote di sedimento di lunghezza variabile ma di diametro limitato, consentendo però di ottenere campioni imperturbati e quindi di caratterizzare anche il sedimento più profondo. In seguito, i sedimenti vengono conservati in appositi contenitori, in funzione del tipo di analisi da effettuare.

Per questo tipo di lavoro i campioni di sedimento sono stati raccolti a mezzo di carotieri.

Per quanto riguarda il campionamento delle specie animali si è proceduto ad una cattura mediante l'uso di nasse (*Squilla*, *Gobius*). Le peculiarità strutturali delle suddette trappole e la loro collocazione sui fondali, rendono tali attrezzi estremamente selettivi rispetto alle specie bersaglio e quindi a questo vanno aggiunti altri elementi indispensabili ai fini di una valutazione chiara della risorsa non riscontrabili in altre metodologie di pesca, quali:

- posizionamento preciso e localizzato degli attrezzi di pesca;
- utilizzabilità lungo tutti i periodi dell'anno (anche nel fermo-pesca);
- rilevamento della distribuzione in tutte le aree costiere (anche entro il miglio e mezzo);
- struttura della popolazione, stato di benessere, spostamenti e migrazioni.
- mantenimento in vita degli esemplari pescati e perfette condizioni di integrità.

Quest'ultima caratteristica è molto importante dal punto di vista delle analisi tossicologiche.

6.1 Stabulazione Organismi

Le specie ittiche, catturate allo scopo delle indagini tossicologiche, sono state subito trasportate nelle vasche di stabulazione dove sono state mantenute alla temperatura e salinità d'origine.

6.2 Conservazione Dei Campioni

Per evitare contaminazioni, i campioni di sedimento non sono stati conservati in bottiglie di plastica, ma in becker di vetro e inoltre sono stati mantenuti al buio, in quanto alcuni composti, come il crisene ed il benzo[a]pirene, sono fotosensibili. I becker sono stati conservati a -25°C in congelatore.

I campioni di biota per le analisi chimiche, invece, sono stati subito puliti ed omogeneizzati. La polpa e gli scarti dei crostacei e dei pesci sono stati riposti in becker di vetro e conservati in congelatore a -25°C .

7. RISULTATI DELLE ANALISI CHIMICHE

Si riportano di seguito i risultati ottenuti a seguito delle analisi chimiche eseguite sulle matrici biologiche e sui sedimenti; vengono esposti i risultati relativi a idrocarburi policiclici aromatici (IPA), policloro bifenili (PCB) e pesticidi clorurati.

Una discussione maggiormente articolata viene riportata nel capitolo seguente.

7.1 Idrocarburi Policiclici E Aromatici

Gli IPA presi in considerazione sono 14 dei 16 inclusi nella lista dei principali inquinanti dell'EPA (U.S. Environmental Protection Agency), escludendo gli IPA più leggeri. Essi sono, in ordine di eluizione:

- 1) fluorene (Fl)
- 2) fenantrene (Phe)
- 3) antracene (An)
- 4) fluorantene (Fth)
- 5) pirene (Py)
- 6) benzo[a]antracene (B[a]A)
- 7) crisene (Chy)
- 8) benzo[e]pirene (B[e]Py)
- 9) benzo[b]fluorantene (B[b]Ft)
- 10) benzo[k]fluorantene (B[k]Ft)
- 11) benzo[a]pirene (B[a]Py)
- 12) dibenzo[a,h]antracene (diB[a,h]A)
- 13) benzo[g,h,i]perilene (B[g,h,i]Per)
- 14) indeno[1,2,3-c,d]pirene (I[1,2,3-c,d]Py)

Gli ultimi 9 IPA sono idrocarburi policiclici aromatici potenzialmente cancerogeni.

I 14 IPA sono stati determinati in cromatografia liquida ad elevate prestazioni, con il metodo illustrato nel rapporto procedurale allegato alla presente relazione. Nelle tabelle 7.1, 7.2, 7.3 e 7.4 sono riportati i dati ottenuti divisi per tipologia di campione esaminato (*Squilla*, *Gobius*, *Mytilus* e sedimenti).

Nella tabella 7.1 vengono riportati i risultati delle analisi compiute sulla polpa del crostaceo della specie *Squilla mantis*; tali risultati mettono in luce la maggior contaminazione da IPA nei siti denominati: Ferriera, Sacchetta e Monfalcone.

Nella tabella 7.2 vengono riportati i risultati delle analisi compiute sulla polpa e sullo scarto (ovvero tutto quello che non è stato considerato polpa) del pesce della specie *Gobius niger* e della specie *Conger conger* (quest'ultimo nel solo sito Sacchetta); esse hanno rivelato la maggior contaminazione dei siti denominati Ferriera, Sacchetta, Tubone, Punta Olmi e Porto Vecchio.

Nella tabella 7.3 vengono riportati i risultati delle analisi compiute sulla polpa del mollusco della specie *Mytilus galloprovincialis* e della specie *Ostrea edulis* (del solo sito Ferriera); vengono confermate le maggiori contaminazioni dei siti Ferriera e Sacchetta.

Nella tabella 7.4 vengono riportati i risultati delle analisi compiute sui sedimenti; anch'esse confermano la maggior contaminazione riscontrata nei siti Ferriera, Sacchetta e Punta Olmi, inoltre emerge anche la contaminazione dei sedimenti del sito Costiera.

Il grafico in figura 7.1 riporta sinotticamente per tutte le matrici i valori della somma delle concentrazioni degli IPA esaminati. Si può notare come le concentrazioni rilevate nei sedimenti campionati in prossimità della zona portuale di Trieste eccedano notevolmente quelle determinate negli organismi.

	Montefalcone	Villaggio del pescatore	Sistiana	Secca S. Croce	Costiera	Tubone	Porto Vecchio	Sacchetta	Diga	Ferriera	Punta Olmi ^e	Punta Olmi ⁱ
Fluorene	0,0100	<LOD	<LOD	<LOD	0,0180	0,0080	0,0050	0,0090	<LOD	0,0090	<LOD	0,0005
Fenantrene	<LOD	0,0040	0,0033	0,0210	0,0400	0,0160	0,0050	0,0440	0,0197	0,0080	0,0320	0,0057
Acenafrene	<LOD	<LOD	<LOD	0,0008	0,0111	<LOD	<LOD	0,0060	0,0021	0,0130	<LOD	0,0026
Fluorantene	<LOD	0,0102	0,0022	0,0068	0,0130	<LOD	0,0060	0,0170	0,0176	0,1140	0,0190	0,0175
Pirene	0,0170	0,0188	0,0016	0,0117	0,0060	0,0150	0,0130	<LOD	0,0226	0,0770	0,0220	0,0232
B(a)antracene	0,0060	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,0050	<LOD	0,0040	0,0150	<LOD	0,0026
Crisene	<LOD	0,0007	<LOD	0,0014	<LOD	0,0070	<LOD	<LOD	0,0057	0,0090	<LOD	0,0025
B(e)pirene	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,0130	0,0090	<LOD	<LOD	0,0090	0,0130	<LOD
B(b)fluorantene	<LOD	0,0030	<LOD	0,0020	<LOD	<LOD	<LOD	0,0070	0,0086	<LOD	<LOD	0,0012
B(k)fluorantene	<LOD	0,0010	0,0007	0,0008	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,0028	<LOD	<LOD	0,0024
B(a)pirene	0,0110	0,0038	0,0015	0,0048	<LOD	<LOD	0,0050	0,0100	0,0106	0,0110	<LOD	0,0036
B(ah)antracene	0,0070	0,0009	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,0100	<LOD	0,0010	<LOD	<LOD	0,0019
B(gh)perilene	0,0720	0,0189	0,0037	0,0254	0,0250	0,0200	0,0250	0,0650	0,0201	0,0300	<LOD	0,0167
Indeno(1,23cd)pirene	0,0130	0,0053	0,0013	0,0037	0,0060	<LOD	<LOD	0,0140	0,0071	0,0050	<LOD	0,0091
IPA totali	0,1514	0,0676	0,0174	0,0792	0,1279	0,1000	0,0960	0,1848	0,1222	0,3080	0,1058	0,0896

Tabella 7.1.: Dati relativi alla specie *Squilla Mantis* espressi in mg/Kg. Limite di rivelabilità, LOD = 0.1 ppb (Limit of Detection). Si riportano i dati relativi al sito punta Olmi campionato in estate (e) e in inverno (i).

	Morfaico me		Villaggio del pescatore		Sistiana		Castora		Tubome		Porto Vecchio		Sacchetta						Diga		Ferrera		Punta Olmi ¹		Punta Olmi ¹			
	Po.	Sc.	Po.	Sc.	Po.	Sc.	Po.	Sc.	Po.	Sc.	Po.	Sc.	Po.	G.Fe.	G.Po.	Po.	Sc.	Po.	Sc.	Po.	Sc.	Po.	Sc.	Po.	Sc.	Po.	Sc.	
Fluorene	0,0060	0,0090	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,0070	0,0140	0,0100	0,0130	<LOD	<LOD	0,0110	0,0140	0,0220	0,0028	0,0028	<LOD	0,0060	0,0060	0,0060	0,0060	0,0060	0,0060	0,0060	0,0320	0,0005	0,0007
Fenantrene	0,0370	<LOD	0,0021	0,0026	0,0024	0,0026	0,0100	0,0080	0,0270	0,0350	<LOD	0,0230	0,0410	0,0400	0,0070	0,0118	0,0108	0,0690	0,0340	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,0080	0,0057	0,0068	
Antracene	<LOD	0,0060	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,0150	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,0050	0,0120	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,0520	0,0026	0,0028	
Fluorantene	0,0150	0,0060	0,0024	0,0016	0,0023	0,0016	0,0050	0,0320	0,0110	0,0180	0,0200	0,0200	0,0280	0,0280	0,0190	0,0061	0,0078	0,0180	0,0700	0,0150	0,0060	0,0060	0,0060	0,0060	0,0175	0,0198		
Pirene	0,0180	<LOD	0,0031	0,0020	0,0037	0,0020	0,0110	0,0240	<LOD	0,0380	0,0060	0,0160	0,0290	0,0270	0,0150	0,0131	0,0138	0,0060	0,0180	0,0300	0,0110	<LOD	<LOD	<LOD	0,0026	0,0186		
B(a)antracene	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,0060	0,0220	<LOD	0,0050	<LOD	<LOD	0,0110	0,0050	<LOD	0,0008	0,0009	<LOD	0,0300	0,0110	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,0026	0,0029		
Chisene	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,0090	<LOD	<LOD	0,0070	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,0016	0,0015	<LOD	0,0150	0,0170	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,0025	0,0022		
B(c)pitrene	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,0420	<LOD	0,0170	<LOD	0,0070	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,0610	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	
B(b)fluorantene	<LOD	0,0080	0,0019	0,0015	0,0016	0,0015	0,0190	0,0550	<LOD	0,0080	<LOD	<LOD	0,0100	0,0170	0,0060	0,0033	0,0027	<LOD	0,0280	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	
B(k)fluorantene	<LOD	<LOD	0,0005	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,0050	0,0015	0,0010	<LOD	0,0280	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,0012	0,0012		
B(a)pitrene	0,0010	0,0080	0,0024	0,0021	0,0027	0,0021	0,0300	0,0220	<LOD	<LOD	0,0060	0,0100	0,0060	0,0180	0,0140	0,0068	0,0061	0,0100	0,0250	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,0024	0,0023		
dB(ah)antracene	0,0080	0,0050	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,0100	0,0190	0,0050	0,0060	<LOD	<LOD	0,0270	0,0090	0,0080	0,0009	0,0010	0,0060	0,0190	0,0360	0,0370	0,0019	0,0019	0,0036	0,0037			
B(ghi)perilene	<LOD	0,0360	0,0078	0,0091	0,0038	0,0091	0,0610	0,0560	0,0220	0,0340	<LOD	<LOD	0,0330	0,0840	0,1060	0,0152	0,0220	0,0420	0,0420	0,0660	0,0100	0,0100	0,0100	0,0167	0,0173			
Indeno(1,2,3-cd)pirene	<LOD	0,0110	0,0024	0,0019	0,0026	0,0019	0,0080	0,0140	<LOD	0,0050	<LOD	<LOD	0,0160	0,0240	<LOD	0,0031	0,0051	0,0160	0,0160	0,1158	0,1608	0,0091	0,0091	0,0091	0,0091			
IPA totali	0,1029	0,0948	0,0237	0,0220	0,0208	0,0220	0,1970	0,2630	0,1070	0,2160	0,1296	0,0980	0,2190	0,2790	0,2141	0,0072	0,0764	0,1818	0,3890	0,2068	0,3058	0,0896	0,0896	0,0896	0,0896			

Tabella 7.2.: Dati relativi alla specie *Gobius niger* e alla specie *Conger conger* (per il sito Sacchetta) espressi in mg/Kg. Limite di rivelabilità, LOD = 0.1 ppb (Limit of Detection). Si riportano i dati relativi al sito punta Olmi campionato in estate (e) e in inverno (i). Po. = polpa, Sc. = scarto, G.Fe. = Grongo fegato, G.Po. = Grongo polpa.

	Monfalcone		Villaggio del pescatore		Sistiana		Secca S. Croce		Costiera		Tubone		Porto Vecchio		Sacchetta		Diga			Ferreria			Punta Olmi ^e		Punta Olmi ⁱ	
	Mf	Ms	Mf	Ms	Mf	Ms	Mf	Ms	Mf	Ms	Mf	Ms	Mf	Ms	Mf	Ms	Mf	Ms	Os	Mf	Ms	Ms	Mf	Ms	Mf	Ms
Fluorene	0,0130	0,0005	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	0,0006	0,0012	0,0050		< LOD	< LOD	< LOD	0,0130	0,0022	0,0020	0,1130	0,0200	0,0080	0,1130	0,0200	0,0080	0,0190	0,0011	0,0013	0,0013
Fenantrene	0,0860	0,0023	0,0018	0,0016	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	0,0390		0,0320	< LOD	< LOD	0,0070	< LOD	< LOD	0,5840	0,0670	0,0250	0,5840	0,0670	0,0250	0,0410	< LOD	< LOD	< LOD
Antracene	0,0070	0,0003	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD		< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	0,1840	0,0660	< LOD	0,1840	0,0660	< LOD	< LOD	0,0013	0,0013	0,0013
Fluorantene	0,0410	0,0028	0,0020	0,0053	0,0054	0,0053	0,0009	< LOD	0,0340		0,0160	0,0050	0,0050	0,0590	0,0083	0,0119	0,6000	0,0300	0,0190	0,6000	0,0300	0,0190	0,0330	0,0219	0,0056	0,0056
Pirene	0,0240	0,0019	0,0019	0,0069	0,0087	0,0069	0,0044	< LOD	0,0230		< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	0,0099	0,0151	0,4100	0,0140	0,0150	0,4100	0,0140	0,0150	0,0150	0,0142	0,0055	0,0055
B(a)antracene	< LOD	0,0006	0,0007	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	0,0100		< LOD	< LOD	< LOD	0,0180	0,0014	0,0029	0,1560	0,0110	0,0090	0,1560	0,0110	0,0090	0,0110	0,0009	0,0015	0,0015
Crisene	< LOD	0,0013	0,0013	0,0010	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	0,0130		0,0060	< LOD	< LOD	0,0210	0,0076	0,0097	0,1390	< LOD	0,0210	0,1390	< LOD	0,0210	0,0140	0,0040	0,0055	0,0055
B(e)pirene	0,0060	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD		0,0080	< LOD	< LOD	0,0140	< LOD	< LOD	0,1270	< LOD	< LOD	0,1270	< LOD	< LOD	0,0130	< LOD	< LOD	< LOD
B(b)fluorantene	0,0180	0,0008	0,0010	0,0009	0,0006	< LOD	< LOD	< LOD	0,0140		< LOD	< LOD	< LOD	0,0630	0,0030	0,0060	0,1270	< LOD	0,180	0,1270	< LOD	0,0180	0,0190	0,0044	0,0041	0,0041
B(k)fluorantene	0,0070	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD		< LOD	< LOD	< LOD	0,0230	0,0016	0,0027	0,5952	0,0100	0,140	0,5952	0,0100	0,140	0,0060	0,0016	0,0052	0,0052
B(a)pirene	0,0260	< LOD	0,0008	0,0012	0,0014	< LOD	< LOD	< LOD	0,0060		0,0110	< LOD	< LOD	0,0240	0,0016	0,0071	0,1197	0,0130	0,0070	0,1197	0,0130	0,0070	0,0140	0,0084	0,0064	0,0064
dB(ab)antracene	0,0720	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD		0,0120	< LOD	< LOD	0,0090	< LOD	0,0009	0,0237	0,0080	< LOD	0,0237	0,0080	< LOD	0,0110	0,0008	0,0008	0,0008
B(ghi)perilene	< LOD	< LOD	< LOD	0,0080	0,0066	0,0022	0,0028	0,0310	0,0310		0,0840	< LOD	< LOD	0,0460	0,0084	0,0140	0,0234	0,0290	0,0150	0,0234	0,0290	0,0150	0,0680	0,0290	0,0216	0,0216
Indeno(1,2,3cd)pirene	0,0220	0,0020	0,0021	0,0023	0,0011	< LOD	< LOD	< LOD	0,0740		0,0110	< LOD	< LOD	0,0100	0,0019	0,0073	0,0515	0,0080	0,0090	0,0515	0,0080	0,0090	0,0070	0,0167	0,0150	0,0150
IPA totali	0,3248	0,0134	0,0128	0,0301	0,0256	0,0088	0,0048	0,2620	0,2620		0,1980	0,0229	0,0229	0,3118	0,0465	0,0808	3,1296	0,3084	0,1618	3,1296	0,3084	0,1618	0,2730	0,1046	0,0743	0,0743

Tabella 7.3.: Dati relativi alla specie *Miytilus Galloprovincialis* espressi in mg/Kg. Limite di rivelabilità, LOD= 0.1 ppb (Limit of Detection). Si riportano i dati relativi al sito punta Olmi campionato in estate (e) e in inverno (i). Ms=mitili campionati in superficie, Mf=mitili campionati sul fondo, Os=ostriche.

	Monfalcone	Villaggio del pescatore	Sistiana	Secca S. Croce	Costiera	Tubone	Porto Vecchio	Sacchetta	Diga	Ferriera	Punta Olmi ^e	Punta Olmi ^d
Fluorene	0,0190	0,0110	0,0180	0,0090	0,0160	<LOD	0,0110	0,2230	0,1650	4,2100	0,0190	0,0250
Fenantrene	0,0180	0,0680	0,1350	0,0690	0,1760	0,0350	0,0580	2,0040	1,0390	11,6800	0,1030	0,1620
Antracene	0,0150	0,0150	0,0360	0,0100	0,0680	<LOD	0,0150	0,9560	0,3720	2,9500	0,0360	0,0620
Fluorantene	0,0160	0,0970	0,3350	0,0660	0,4340	0,0400	0,0920	4,2370	2,3580	17,9700	0,2960	0,4340
Pirene	0,0200	0,0580	0,1710	0,0440	0,2870	0,0150	0,0970	2,8180	1,6180	13,4800	0,1460	0,3660
B(a)antracene	0,0020	0,0570	0,0930	0,0270	0,1660	0,0130	0,0100	1,7510	0,9350	4,5700	0,1020	0,1140
Crisene	0,0060	0,0690	0,1030	0,0360	0,2990	0,0200	0,0400	2,4810	1,0280	3,6900	0,1320	0,1420
B(e)pirene	0,0010	0,0140	0,0470	0,0100	0,0790	0,0570	<LOD	0,8470	0,8920	0,1000	0,2670	0,0840
B(b)fluorantene	0,0090	0,0540	0,1030	0,0380	0,2630	0,0270	0,0270	2,5790	0,9230	4,1500	0,1230	0,1040
B(k)fluorantene	0,0220	0,0220	0,0450	0,0150	0,1580	0,0120	0,0110	1,3530	0,4250	1,9000	0,0570	0,0490
B(a)pirene	0,0030	0,0570	0,1200	0,0300	0,3290	0,0340	0,0260	3,5160	1,0720	4,5100	0,1350	0,1200
dB(ab)antracene	0,0004	0,1190	0,0250	0,0060	0,0630	0,0130	<LOD	0,6820	0,1490	1,0300	0,0340	0,0250
B(gh)perilene	0,0130	0,0370	0,1260	0,0970	0,3490	0,0660	0,0090	2,8470	0,3160	1,3300	0,1120	0,1150
Indeno(123cd)pirene	0,0004	0,0250	0,0460	0,0240	0,2740	0,0240	0,0864	2,5200	0,8630	2,8400	0,0950	0,0670
IPA totali	0,1448	0,7030	1,4030	0,4810	2,9610	0,3560	0,4824	28,8140	12,1550	74,4100	1,6570	1,8690

Tabella 7.4.: Dati relativi ai sedimenti espressi in mg/Kg. Limite di rivelabilità, LOD = 0.1 ppb (Limit of Detection). Si riportano i dati relativi al sito punta Olmi campionato in estate (e) e in inverno (i).

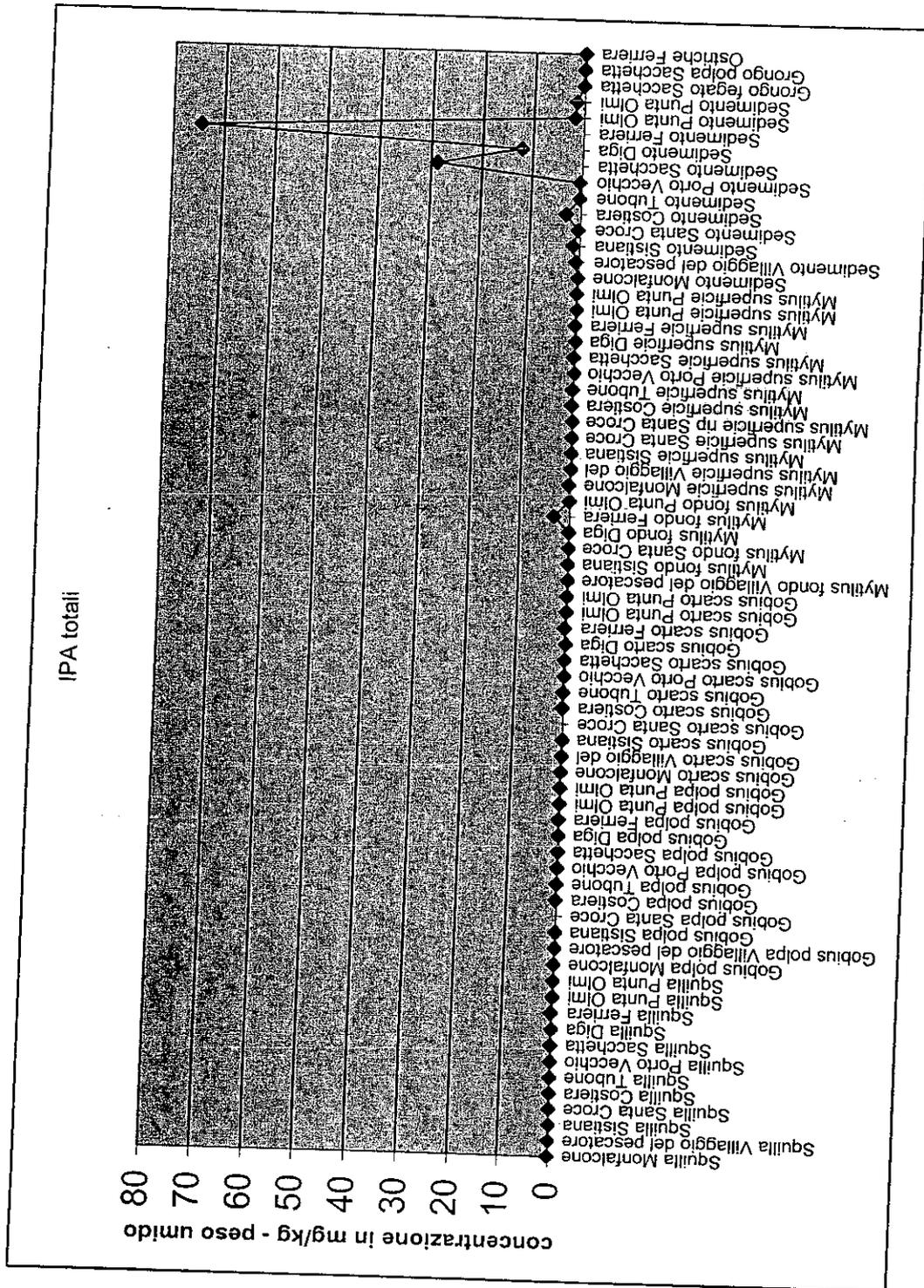


Figura 7.1: somma delle concentrazioni degli IPA determinati per ogni matrice analitica.

7.2 Policlorobifenili

I policlorobifenili (PCB) presi in considerazione sono:

1)	TetraClBifenile 81
2)	TetraClBifenile 77
3)	PentaClBifenile 118
4)	PentaClBifenile 114
5)	PentaClBifenile 123
6)	PentaClBifenile 105
7)	PentaClBifenile 126
8)	HexaClBifenile 167
9)	HexaClBifenile 156
10)	HexaClBifenile 157
11)	HexaClBifenile 169
12)	HeptaClBifenile 189
13)	ClBifenile 1
14)	DiClBifenile 5
15)	TriClBifenile 18
16)	TriClBifenile 28
17)	TriClBifenile 31

18)	PentaClBifenile 99
19)	PentaClBifenile 87
20)	PentaClBifenile 110
21)	HexaClBifenile 149
22)	HexaClBifenile 146
23)	HexaClBifenile 153
24)	HexaClBifenile 141
25)	HexaClBifenile 138
26)	HexaClBifenile 128
27)	HeptaClBifenile 187
28)	HeptaClBifenile 183
29)	HeptaClBifenile 177
30)	HeptaClBifenile 180

I primi 12 PCB sono detti diossina-simili e sono i più tossici .

Nelle tabelle 7.5, 7.6, 7.7, 7.8 sono riportati i dati ottenuti divisi per matrice analitica.

Nella tabella 7.5 vengono riportati i risultati delle analisi compiute sulla polpa del crostaceo della specie *Squilla mantis*; dai risultati emerge che il sito maggiormente contaminato da policlorobifenili risultano essere il sito denominato Sacchetta (32,860 $\mu\text{g}/\text{Kg}$), seguono nell'ordine: Diga, Ferriera e Porto Vecchio (con valori di concentrazione intorno ai 7 $\mu\text{g}/\text{Kg}$).

Nella tabella 7.6 vengono riportati i risultati delle analisi compiute sulla polpa e sullo scarto (ovvero tutto quello che non è stato considerato polpa) del pesce della specie *Gobius niger* e della specie *Conger conger* (quest'ultimo nel solo sito Sacchetta); risultano come siti maggiormente contaminati: Diga, Porto Vecchio, Sacchetta e Ferriera, con valori di concentrazione tra 8 $\mu\text{g/Kg}$ e 13 $\mu\text{g/Kg}$, considerando la polpa degli organismi e tra 13 $\mu\text{g/Kg}$ e 58 $\mu\text{g/Kg}$.

Nella tabella 7.7 vengono riportati i risultati delle analisi compiute sulla polpa del mollusco della specie *Mytilus galloprovincialis*; la maggior contaminazione viene riscontrata nei siti: Porto Vecchio, Diga e Ferriera con valori di concentrazione dai 3 $\mu\text{g/Kg}$ ai quasi 10 $\mu\text{g/Kg}$.

Nella tabella 7.8 vengono riportati i risultati delle analisi compiute sui sedimenti; il sito maggiormente contaminato risulta essere il sito Porto Vecchio (18,020 $\mu\text{g/Kg}$).

Il grafico in figura 7.2 riporta sinotticamente per tutte le matrici i valori della somma delle concentrazioni dei PCB esaminati. In questo caso si rileva come i dati rilevati per alcuni organismi campionati (*Gobius* e *Squilla*) in prossimità della zona portuale di Trieste ma anche della diga Rizzo presentino i valori massimi.

	Montalbano	Villaggio del pescatore	Sistiana	Secca S. Croce	Costiera	Tubone	Porto Vecchio	Sarchetta	Diga	Ferriera	Punta Olmi°	Punta Olmi'
CIBifenile 1	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
DiCIBifenile 5	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
TriCIBifenile 18	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
TetraCIBifenile 44	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
TetraCIBifenile 52	<LOD	<LOD	0,097	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,277	<LOD	<LOD	<LOD
TetraCIBifenile 66	0,120	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,260	0,790	0,210	0,110	<LOD	<LOD
TetraCIBifenile 77	<LOD	0,067	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
PentaCIBifenile 87	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,130	0,210	0,896	<LOD	<LOD	<LOD
PentaCIBifenile 95	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,150	0,330	0,224	<LOD	<LOD	<LOD
PentaCIBifenile 99	0,180	0,169	0,137	<LOD	0,290	0,220	0,530	<LOD	1,229	0,490	<LOD	<LOD
PentaCIBifenile 101	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,180	0,280	0,840	<LOD	<LOD	0,510	<LOD
PentaCIBifenile 105	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,210	0,510	1,610	<LOD	0,280	0,210	<LOD
PentaCIBifenile 110	<LOD	<LOD	<LOD	0,092	<LOD	0,170	0,390	<LOD	<LOD	0,270	0,160	<LOD
PentaCIBifenile 118	<LOD	0,200	<LOD	0,160	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,370	0,180	<LOD
PentaCIBifenile 123	0,270	<LOD	<LOD	<LOD	0,340	0,400	1,110	7,420	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
PentaCIBifenile 126	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,530	<LOD	0,680	0,670	<LOD
HexaCIBifenile 128	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,120	0,520	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
HexaCIBifenile 138	0,480	<LOD	<LOD	0,378	<LOD	<LOD	1,700	6,100	<LOD	0,160	0,100	<LOD
HexaCIBifenile 141	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,530	<LOD	0,270	3,654	1,420	1,200	<LOD
HexaCIBifenile 146	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,120	0,750	<LOD	0,160	<LOD	<LOD
HexaCIBifenile 149	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,190	<LOD	<LOD
HexaCIBifenile 151	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,050	<LOD	<LOD
HexaCIBifenile 153	0,400	<LOD	<LOD	<LOD	0,600	0,650	<LOD	0,130	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
HexaCIBifenile 156	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	1,370	6,250	<LOD	1,640	1,500	<LOD
HexaCIBifenile 157	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,890	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
HexaCIBifenile 167	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,260	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
HeptaCIBifenile 170	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,550	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
HeptaCIBifenile 177	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,750	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
HeptaCIBifenile 180	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,240	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
HeptaCIBifenile 183	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,250	0,480	2,230	<LOD	0,600	0,300	<LOD
HeptaCIBifenile 187	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,110	0,310	<LOD	0,140	<LOD	<LOD
HeptaCIBifenile 189	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,250	0,220	<LOD	2,060	<LOD	0,620	0,550	<LOD
totale pcb	1,450	0,436	0,234	0,630	2,190	2,830	7,260	32,860	7,750	7,300	5,500	0,000

Tabella 7.5.: Dati relativi alla specie *Squilla Mantis* espressi in µg/Kg. Limite di rivelabilità, LOD = 0.01 ppb (Limit of Detection). Si riportano i dati relativi al sito punta Olmi campionato in estate (e) e in inverno (i).

	Montefalcone		Villaggio del pescatore		Sirtifana		Secca S. Croce		Corfiera		Tubone		Porto Vecchio		Sacchetti		Diga		Ferraia		Punta Olmi'		Punta Olmi'	
	Mf	Ms	Mf	Ms	Mf	Ms	Mf	Ms	Mf	Ms	Mf	Ms	Mf	Ms	Mf	Ms	Mf	Ms	Mf	Ms	Mf	Ms	Mf	Ms
CIBifenile 1	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
DicIBifenile 5	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
TriCBifenile 18	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
TetraCBifenile 44	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,120	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
TetraCBifenile 52	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,054	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
TetraCBifenile 66	<LOD	<LOD	0,144	<LOD	<LOD	0,132	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,480	0,065	0,081	6,280	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
TetraCBifenile 77	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,210	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
PentaCBifenile 87	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,300	0,108	<LOD	<LOD	0,150	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
PentaCBifenile 95	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,410	0,084	<LOD	<LOD	0,004	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
PentaCBifenile 99	<LOD	<LOD	0,195	<LOD	<LOD	0,093	<LOD	<LOD	0,195	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,320	<LOD	0,390	<LOD	0,190	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
PentaCBifenile 101	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,570	<LOD	0,492	0,180	0,430	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
PentaCBifenile 105	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,041	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,140	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
PentaCBifenile 110	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,350	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
PentaCBifenile 116	0,150	0,180	0,260	<LOD	0,260	0,035	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,180	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,336
PentaCBifenile 118	0,200	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,350	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
PentaCBifenile 123	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,004	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
PentaCBifenile 126	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
HexaCBifenile 128	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
HexaCBifenile 138	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,190	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
HexaCBifenile 141	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,740	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
HexaCBifenile 146	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,114	0,300	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
HexaCBifenile 149	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,360	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
HexaCBifenile 151	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,289	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,210	0,400	1,077	0,160	0,160	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
HexaCBifenile 153	0,140	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,245	0,190	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
HexaCBifenile 156	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,180	<LOD	0,120	<LOD	<LOD	<LOD	0,730	<LOD	<LOD	<LOD	0,550	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
HexaCBifenile 157	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,340	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
HexaCBifenile 167	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,240	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
HexaCBifenile 170	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,099	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
HeptaCBifenile 177	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
HeptaCBifenile 180	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
HeptaCBifenile 183	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,369	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
HeptaCBifenile 187	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,456	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
HeptaCBifenile 189	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,300	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
totale ppb	0,490	0,519	0,560	0,108	0,132	0,469	0,369	0,180	0,844	1,267	5,134	3,254	0,120	9,844	4,540	9,068	3,254	0,855	0,120	0,855	0,336	0,120	0,336	0,336

Tabella 7.7.: Dati relativi alla specie *Miytilus Galloprovincialis* espressi in µg/Kg. Limite di rivelabilità, LOD= 0.01 ppb (Limit of Detection). Si riportano i dati relativi al sito punta Olmi campionato in estate (e) e in inverno (i). Ms=mitili campionati in superficie, Mf=mitili campionati sul fondo.

	Monfalcone	Villaggio del pescatore	Sistiana	Setta S. Croce	Costiera	Tubone	Porto Vecchio	Sacchetta	Diga	Ferriera	Punta Olmi°	Punta Olmi'
CIBifenile 1	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,150	<LOD	<LOD	<LOD
DiCBifenile 5	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,110	<LOD	0,070	<LOD
TriCBifenile 18	0,110	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,050	<LOD	<LOD	<LOD
TetraCBifenile 44	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,240	<LOD	<LOD	<LOD	0,200	<LOD	0,200	<LOD
TetraCBifenile 52	<LOD	0,140	<LOD	<LOD	1,130	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,340	<LOD
TetraCBifenile 66	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,360	<LOD	0,940	<LOD	<LOD	<LOD	0,310	0,970
TetraCBifenile 77	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,300	<LOD	<LOD	<LOD
PentaCBifenile 87	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	2,910	<LOD	0,120	<LOD	0,060	<LOD
PentaCBifenile 95	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,470	<LOD	0,690	1,840	<LOD	0,004	0,370	<LOD
PentaCBifenile 99	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	2,050	0,900	0,400	0,640	0,260	<LOD
PentaCBifenile 101	0,090	<LOD	<LOD	<LOD	0,410	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,520	0,430	<LOD
PentaCBifenile 105	<LOD	0,120	<LOD	<LOD	0,410	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,070	<LOD
PentaCBifenile 110	<LOD	<LOD	<LOD	0,060	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,790	0,840	<LOD
PentaCBifenile 118	<LOD	0,190	<LOD	0,100	0,540	<LOD	1,080	<LOD	1,080	<LOD	0,370	<LOD
PentaCBifenile 123	<LOD	<LOD	<LOD	0,080	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,400	<LOD	<LOD	<LOD
PentaCBifenile 126	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,490	<LOD	<LOD	<LOD	0,430	<LOD	<LOD	<LOD
HexaCBifenile 128	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,320	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
HexaCBifenile 138	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	2,830	<LOD	<LOD	0,610	<LOD	<LOD
HexaCBifenile 141	<LOD	<LOD	<LOD	0,060	0,570	<LOD	<LOD	<LOD	0,210	0,230	0,310	<LOD
HexaCBifenile 146	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	1,310	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
HexaCBifenile 149	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	3,240	0,960	<LOD	<LOD	0,070	<LOD
HexaCBifenile 151	<LOD	<LOD	0,120	0,070	0,140	<LOD	0,450	0,690	0,360	<LOD	0,390	0,050
HexaCBifenile 153	0,110	<LOD	<LOD	<LOD	0,150	<LOD	<LOD	0,480	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
HexaCBifenile 156	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,280	<LOD	<LOD	0,960	<LOD	0,460	<LOD	0,980
HexaCBifenile 157	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
HexaCBifenile 167	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
HexaCBifenile 170	<LOD	0,240	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	1,050	<LOD	<LOD	0,330	<LOD	<LOD
HeptaCBifenile 177	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,240	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
HeptaCBifenile 180	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,290	<LOD	<LOD	0,260	<LOD	<LOD
HeptaCBifenile 183	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,960	<LOD	<LOD	0,230	<LOD	<LOD
HeptaCBifenile 187	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,090	<LOD	0,070	<LOD
HeptaCBifenile 189	<LOD	0,120	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
totale pcb	0,310	0,810	0,240	0,370	5,510	0,000	16,020	5,830	3,900	4,074	4,160	2,000

Tabella 7.8.: Dati relativi ai sedimenti espressi in µg/Kg. Limite di rivelabilità, LOD = 0.01 ppb (Limit of Detection). Si riportano i dati relativi al sito punta Olmi campionato in estate (e) e in inverno (i).

7.3 Pesticidi

Tra tutte le famiglie di pesticidi esistenti è stata considerata la famiglia dei pesticidi organoclorurati. I pesticidi da noi presi in considerazione sono:

<input type="checkbox"/> a Chlordane
<input type="checkbox"/> aldrin
<input type="checkbox"/> Dieldrin
<input type="checkbox"/> Endrin
<input type="checkbox"/> g Chlordane
<input type="checkbox"/> g-Lindano
<input type="checkbox"/> H C B
<input type="checkbox"/> Heptachlor
<input type="checkbox"/> Heptachlor epoxide
<input type="checkbox"/> op' DDD
<input type="checkbox"/> op' DDT
<input type="checkbox"/> pp' DDD
<input type="checkbox"/> pp' DDE

Nelle tabelle 7.9, 7.10, 7.11 e 7.12 sono riportati i dati ottenuti divisi per tipologia di campione esaminato.

Nella tabella 7.9 vengono riportati i risultati delle analisi compiute sulla polpa del crostaceo della specie *Squilla mantis*; tali risultati mettono in luce la maggior contaminazione da pesticidi, se pur con valori non particolarmente elevati (6-8 μg), dei siti denominati: Sistiana, Sacchetta, Tubone e Porto vecchio.

Nella tabella 7.10 vengono riportati i risultati delle analisi compiute sulla polpa e sullo scarto (ovvero tutto quello che non è stato considerato polpa) del pesce della specie *Gobius niger* e della specie *Conger conger* (quest'ultimo nel solo sito Sacchetta); dai risultati presentati emerge l'evidente contaminazione da pesticidi del sito denominato Diga (135 $\mu\text{g}/\text{Kg}$), seguono se pur con minor

contaminazione i siti denominati Porto Vecchio, Diga e Secca S. Croce con valori da 33 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ a 11 $\mu\text{g}/\text{Kg}$.

Nelle tabelle 7.11 e 7.12 sono riportati rispettivamente i risultati della analisi condotte sul mollusco *Mytilus galloprovincialis* e sui sedimenti, entrambi le matrici mostrano i maggiori dati di contaminazione da pesticidi nei siti denominati Diga e Villaggio del pescatore.

Il grafico in figura 7.3 riporta, sinotticamente per tutte le matrici, i valori della somma delle concentrazioni dei pesticidi esaminati.

	Montalcone	Villaggio del pescatore	Sistiana	Secca S. Croce	Costiera	Tubone	Porto Vecchio	Sacchetti	Diga	Ferriera	Punta Olmi ^e	Punta Olmi ^d
a Chlordane	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
aldrin	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Dieldrin	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Endrin	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
g Chlordane	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
g-Lindano	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,020
H C B	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,112
Heptachlor	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Heptachlor epoxide	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
pp' DDD	<LOD	0,232	0,859	0,086	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,416	<LOD	<LOD	0,054
pp' DDT	<LOD	0,018	<LOD	0,015	<LOD	<LOD	0,390	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
pp' DDD	<LOD	1,002	3,582	0,918	<LOD	2,710	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,424
pp' DDE	<LOD	0,781	3,931	1,814	<LOD	3,790	6,020	7,780	<LOD	1,790	2,610	0,361
totale pesticidi	0,000	2,033	8,372	2,834	0,000	6,500	6,410	7,780	0,416	1,790	2,610	0,971

Tabella 7.9.: Dati relativi alla specie *Squilla Mantis* espressi in µg/Kg. Limite di rivelabilità, LOD = 0.01 ppb (Limit of Detection). Si riportano i dati relativi al sito punta Olmi campionato in estate (e) e in inverno (i).

	Montalcone		Villaggio del pescatore		Sistara		Secca S. Croce		Costera		Tubone		Porto Vecchio		Sacchetta				Diga		Feltara		Punta Olmi ^a		Punta Olmi ^b			
	Po.	Sc.	Po.	Sc.	Po.	Sc.	Po.	Sc.	Po.	Sc.	Po.	Sc.	Po.	Sc.	Po.	G.Fe.	G.Po.	Po.	Sc.	Po.	Sc.	Po.	Sc.	Po.	Sc.	Po.	Sc.	
a Chlordane	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
aldrin	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Dieldrin	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Endrin	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
g-Chlordane	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
g-Lindano	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
H C B	<LOD	<LOD	<LOD	0,072	<LOD	0,288	0,336	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Heptachlor	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,048
Heptachlor epoxide	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
op' DDD	<LOD	<LOD	<LOD	0,234	<LOD	1,296	0,238	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	14,150	19,550	<LOD	<LOD	4,018	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,032
op' DDT	<LOD	<LOD	<LOD	0,021	<LOD	0,136	<LOD	<LOD	<LOD	0,900	<LOD	<LOD	0,730	3,460	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,171	0,021
pp' DDD	<LOD	<LOD	1,932	1,770	1,926	3,792	4,560	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	3,270	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	1,170	2,890	0,910
pp' DDE	1,630	<LOD	1,903	1,796	1,283	5,897	4,574	<LOD	2,050	1,910	7,040	5,990	10,320	3,150	4,940	4,320	3,030	4,082	105,798	0,730	1,630	1,630	1,170	2,890	0,452	0,216	0,216	
totale pesticidi	1,630	0,000	3,835	3,800	3,698	11,136	10,037	0,000	2,950	1,910	7,040	33,370	24,140	3,150	10,450	4,320	3,030	10,404	135,775	0,730	1,630	1,630	2,340	5,780	1,533	0,592	0,592	

Tabella 7.10.: Dati relativi alla specie *Gobius niger* e alla specie *Conger conger* (per il sito Sacchetta) espressi in µg/Kg. Limite di rivelabilità, LOD = 0.01 ppb (Limit of Detection). Si riportano i dati relativi al sito punta Olmi campionato in estate (e) e in inverno (i). Po. = polpa, Sc. = scarto, G.Fe. = Grongo fegato, G.Po. = Grongo polpa

	Monfalcone		Villaggio del pescatore		Sistiana		Secca S. Croce		Costiera		Tubone		Porto Vecchio		Sacchetta		Diga		Ferriera		Punta Olmi*		Punta Olmi¹	
	Mf	Ms	Mf	Ms	Mf	Ms	Mf	Ms	Mf	Ms	Mf	Ms	Mf	Ms	Mf	Ms	Mf	Ms	Mf	Ms	Mf	Ms	Mf	Ms
a Chlordane	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
aldrin	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,080	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,288	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Dieldrin	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Endrin	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
g Chlordane	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	2,472	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
g Lindano	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
H C B	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,068	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Heptachlor	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Heptachlor epoxide	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
op' DDD	<LOD	<LOD	<LOD	0,614	0,212	<LOD	0,729	0,308	3,580	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	1,764	0,281	<LOD	<LOD	<LOD	0,630	0,328	0,445
op' DDT	<LOD	<LOD	0,080	<LOD	0,012	<LOD	<LOD	0,045	0,790	<LOD	1,090	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
pp' DDD	<LOD	<LOD	3,360	4,310	0,704	0,960	3,42	0,504	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	3,180	0,536	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,224	<LOD
pp' DDE	<LOD	<LOD	3,297	5,313	0,273	0,517	3,5721	4,026	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	7,854	0,244	1,880	<LOD	<LOD	0,000	0,970	1,277
totale pesticidi	0,000	6,737	10,437	1,349	1,477	7,7211	4,883	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	1,880	12,798	3,820	1,880	0,000	0,630	1,522	2,101	2,101

Tabella 7.11.: Dati relativi alla specie *Mytilus Galloprovincialis* espressi in µg/Kg.

Limite di rivelabilità, LOD = 0.01 ppb (Limit of Detection). Si riportano i dati relativi al sito punta Olmi campionato in estate (e) e in inverno (i).

Ms = mitili campionati in superficie, Mf = mitili campionati sul fondo.

	Monfalcone	Villaggio del pescatore	Sistiana	Secra S. Croce	Costiera	Tubone	Punto Vecchio	Sacchetta	Diga	Ferriera	Punta Olmi*	Punta Olmi'
a Chlordane	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,660	<LOD	<LOD	<LOD
aldrin	<LOD	2,470	0,130	0,030	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,100	<LOD
Dieldrin	<LOD	2,400	0,400	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Endrin	<LOD	1,700	<LOD	0,070	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
g Chlordane	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	1,110	<LOD	<LOD	<LOD
g Lindano	<LOD	0,700	<LOD	0,410	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
H C B	<LOD	0,620	0,220	0,160	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Heptachlor	<LOD	<LOD	0,130	0,100	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Heptachlor epoxide	<LOD	0,190	0,400	0,310	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,230	<LOD
op' DDD	<LOD	0,220	0,800	0,900	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	1,370	<LOD	<LOD	<LOD
op' DDT	<LOD	0,500	0,300	0,530	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	1,700	<LOD	0,310	<LOD
pp' DDD	<LOD	1,580	2,530	0,620	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	5,660	<LOD	1,000	<LOD
pp' DDE	<LOD	0,310	0,500	0,310	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
totale pesticidi	0,000	10,690	5,410	3,460	0,000	0,000	0,000	0,000	10,500	0,000	1,750	0,000

Tabella 7.12.: Dati relativi ai sedimenti espressi in µg/Kg. Limite di rivelabilità, LOD = 0.01 ppb (Limit of Detection). Si riportano i dati relativi al sito punta Olmi campionato in estate (e) e in inverno (i).

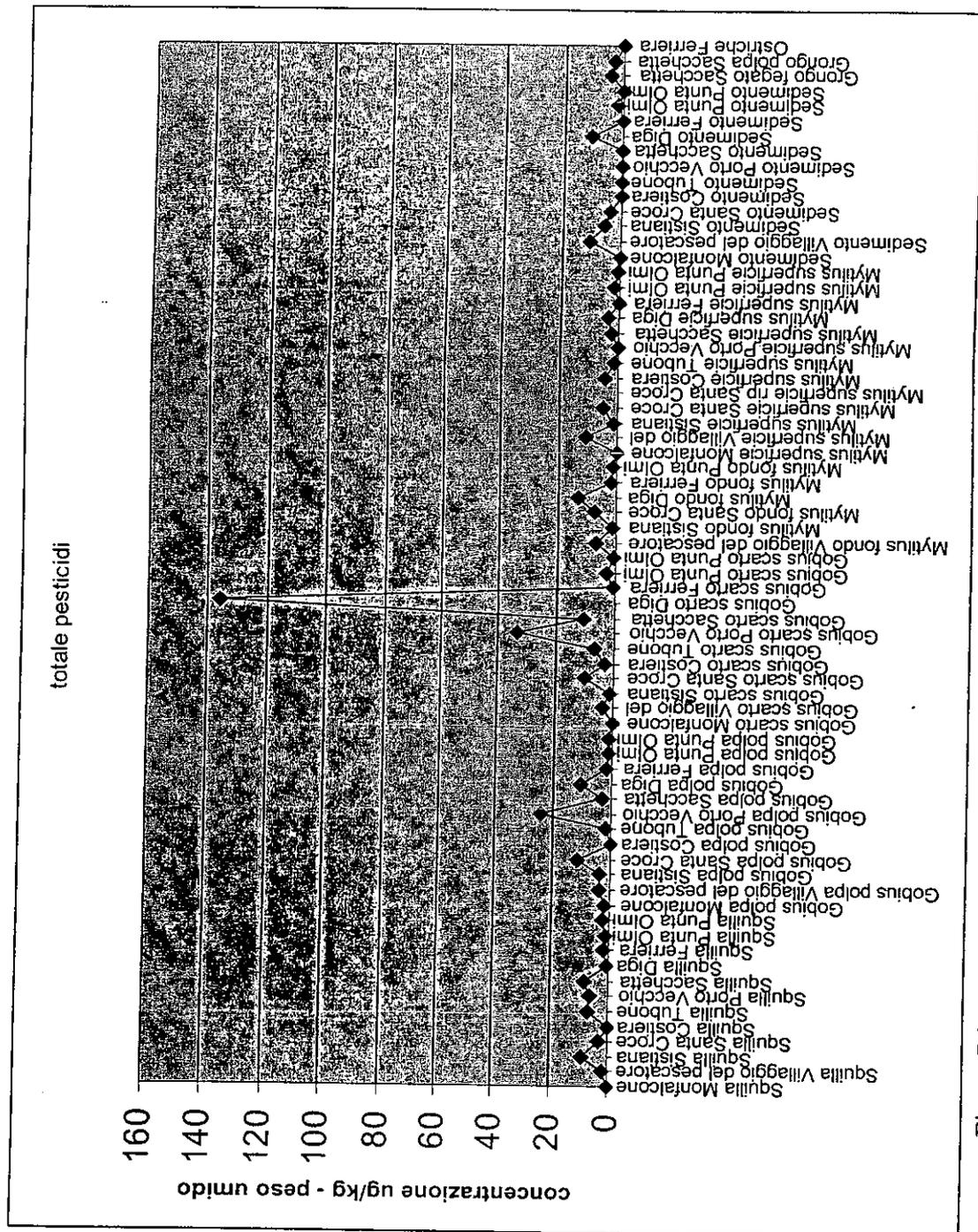


Figura 7.3: somma delle concentrazioni dei pesticidi determinati per ogni matrice analitica.

8. RISULTATI DELLE ANALISI TOSSICOLOGICHE

Premessa

Il Test della Cometa o *Comet assay* è un metodo d'analisi tossicologica che, dal momento della sua introduzione (Ostling and Johanson, 1984), ha avuto una grandissima espansione nelle possibilità d'applicazione: dal campo dell'epidemiologia umana al campo dell'eco-tossicologia.

I risultati riportati sono stati ottenuti seguendo il metodo sviluppato da Singh nel 1988, con le modifiche di messa a punto che sono risultate opportune al fine di applicare tale metodo alle matrici specifiche di questo studio (*Squilla mantis* e *Gobius niger*). Il metodo di Singh è stato scelto al fine di misurare i livelli più bassi di danno al DNA (rotture al filamento singolo), con maggior sensibilità.

Il dettaglio della procedura seguita viene descritto nel documento tecnico procedurale allegato.

Vengono di seguito descritti alcuni dei punti importanti della messa a punto del metodo.

Alcune delle modifiche che sono state applicate in questo ambito di ricerca, sono state necessarie per l'indagine specifica delle specie ittiche *in vivo*. A seguito di una prima parte della ricerca condotta su linee cellulari in coltura, le successive analisi tossicologiche sono state eseguite su animali vivi, esposti alla reale contaminazione ambientale. Ciò risponde all'esigenza d'utilizzare una metodica di valutazione del danno al DNA che fornisca risultati quanto più rappresentativi della reale situazione ambientale.

Tuttavia, la necessità di lavorare *in vivo* richiede manualità e tempi d'azione, nel trattare gli organismi, tali da indurre su di essi il minor stress possibile. Si è valutato lo stress al DNA di cellule dell'apparato circolatorio degli organismi indicatori (eritrociti di *Gobius* e emociti di *Squilla*).

In particolar modo, gli esemplari della specie *Gobius niger*, organismo bentonico di piccola taglia, possiedono sistema circolatorio molto vascolarizzato. Tale caratteristica comporta la capacità del sangue di coagulare molto velocemente e una possibilità di prelievo molto limitata.

Per queste peculiarità, la messa a punto ha richiesto differenti analisi tossicologiche utilizzando opportuni conservanti. Sono stati testati i seguenti conservanti: EDTA (Acido Etilendiamminotetracetico), Eparina e Sodio Citrato. Il conservante scelto, infine, è stato l'Eparina.

Per quanto riguarda la specie *Squilla mantis*, molto del lavoro di messa a punto è stato indirizzato a risolvere il problema della coagulazione degli emociti, dovuto alla particolarità di tali cellule (vedi documento tecnico procedurale allegato).

Infine si è scelto d'utilizzare per la preparazione della sospensione cellulare una soluzione specifica (Soluzione Kenny – descritta nell'allegato 2) adatta alle cellule trattate. Inoltre si è rivelato di primaria importanza l'utilizzo di materiali mantenuti a 4°C (siringhe, aghi, Eppendorf, camere contaglobuli, puntali ecc.), al fine di evitare coagulazione e apoptosi delle cellule.

Nel trattamento di emociti, i tempi d'esecuzione dell'analisi a seguito del prelievo devono essere rapidi e non è risultata possibile la conservazione del materiale cellulare.

Altresì rilevante, si è dimostrato il controllo delle temperature delle preparazioni in agarosio, che devono rigorosamente mantenersi negli intervalli specifici di temperatura, indicati dalla procedura, per evitare fenomeni apoptotici.

Ulteriori risultati delle scelte di messa a punto (tempi, differenza di potenziale, voltaggio di elettroforesi, tempi di lisi, colorazione dei vetrini ecc.), ottenuti in questa ricerca, sono indicati nel documento tecnico procedurale di valutazione della tossicità allegato.

Risultati

Vengono di seguito riportati i risultati delle indagini tossicologiche, condotte nei siti geografici selezionati a seguito della disponibilità di esemplari di organismi.

I siti considerati sono quelli denominati:

- Sistiana;
- Gaslini;
- Monfalcone;
- Villaggio del pescatore;
- Secca S. Croce.

Le analisi tossicologiche sono state effettuate su sangue di pesci (*Gobius niger*) pescati nel periodo invernale (dicembre 2004 - febbraio 2005) ed estivo (giugno 2005 - luglio 2005), e su emolinfa di crostacei (*Squilla mantis*) pescati nel periodo estivo (giugno, luglio, agosto 2005) e nel periodo autunnale (ottobre e novembre 2005).

I crostacei della specie *Squilla mantis* sono stati analizzati nel periodo estivo e autunnale per la difficoltà esistente nella loro cattura durante il periodo invernale.

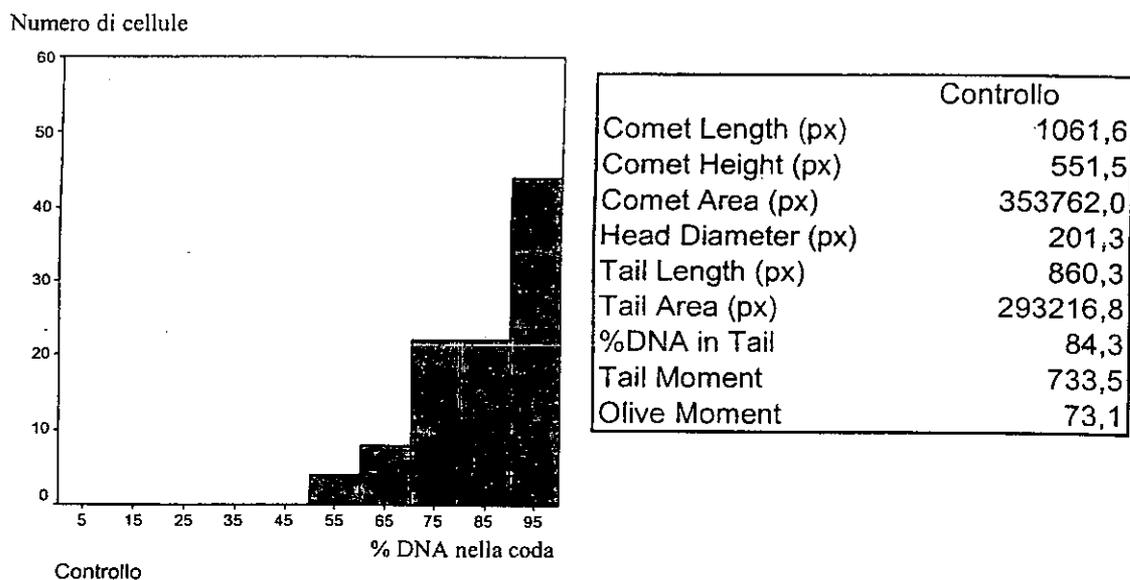
I risultati vengono sintetizzati negli istogrammi presentati e nelle tabelle che riportano i valori medi dei parametri delle analisi d'immagine.

Va sottolineata l'importanza di considerare la distribuzione della popolazione - rappresentata nell'istogramma - rispetto al solo valore medio dei parametri misurati, in quanto, pochi valori elevati per le comete possono alterare il valor medio.

Come descritto nel documento tecnico procedurale, i risultati s'intendono comparati con campioni di controllo positivi con una differenza significativa ed una probabilità d'errore dello 0.05%, ovvero con un livello di significatività pari al 95%.

In figura 8.1 si riportano i risultati delle misure effettuate sul controllo positivo utilizzato (esposizione delle cellule alla soluzione di perossido d'idrogeno 99 μM). L'istogramma presentato mostra assenza di cellule con nuclei integri e un livello di danno al DNA piuttosto elevato. Più del 40 % delle cellule

considerate presenta una frammentazione dei filamenti di DNA, tale da avere le code delle comete composte dal 95% del materiale genetico.



*Fig. 8.1: Esempio di un campione di controllo, istogramma di un campione di emolinfa di *Squilla mantis* esposto per 10 minuti alla soluzione di Perossido d'idrogeno 99 μM .*

Risultati ottenuti da *Gobius niger*:

Dai risultati ottenuti si evince un'evidenza di danno al DNA negli organismi catturati nel periodo estivo. Tale risultato potrebbe essere imputato al maggior stress al quale gli organismi sono sottoposti al momento della cattura, dovendo affrontare lo sbalzo termico causato dall'attraversamento del termoclino⁶.

Infatti, con l'inizio di giugno, l'effetto del riscaldamento del mare è molto marcato e, in superficie, si superano i 27°C con l'onda termica che si propaga in basso fino a 13-14m di profondità, dove permangono 18°C.

Alla fine di agosto si forma una discreta stratificazione verso i 6m con un nucleo d'acqua più fredda nella parete inferiore della colonna.

Nel periodo invernale, invece, la colonna d'acqua mantiene una temperatura bassa in modo omogeneo in tutta la colonna.

In figura 8.2 sono riportati due istogrammi rappresentativi del danno al DNA misurato in sangue di pesci (*Gobius niger*) pescati nel sito Gaslini nei mesi estivi (fig. 8.2a), e in quelli invernali (fig. 8.2b). Negli istogrammi di cui sopra, sono riportati in ascissa le percentuali di frammenti di DNA nella coda della cometa e in ordinata il numero di cellule. I risultati riportati sono riferiti ad un campione di 100 cellule, rappresentativo di 10 campioni, relativi a 5 individui catturati in ogni sito geografico.

In entrambe le stagioni più del 50% delle cellule del campione non presenta danno al DNA, tuttavia nel periodo estivo è ben evidente un sottogruppo di cellule con evidente formazione di comete.

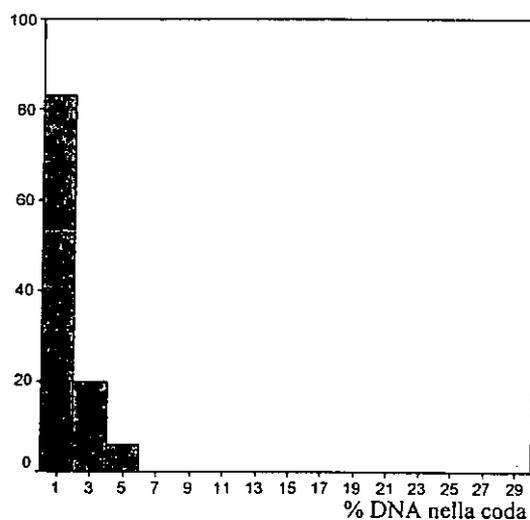
Da questi risultati preliminari si può desumere una condizione abbastanza buona degli organismi nel sito denominato Gaslini. Gli addetti alla pesca riferiscono che il sito in questione (collocato in una zona di attracco pescherecci del mercato ittico) è molto popolato da organismi marini, in quanto, in tal sede, viene eseguita la pulitura delle reti da pesca.

⁶ Nel Mediterraneo la temperatura dell'acqua non scende mai al di sotto dei 13 °C neppure oltre i 4000 metri di profondità. Quando dalla primavera il sole comincia a farsi sentire, il repentino riscaldamento favorisce la formazione di strati superficiali piuttosto caldi e meno densi, sovrastanti strati di acqua marina più freddi e più densi.

La temperatura però, non diminuisce gradualmente verso il fondo, ma ad una certa profondità rimane costante mostrando una sorta di fascia ben definita, uno scalino termico detto termoclino.

I risultati delle indagini sui pesci della specie *Gobius niger*, hanno messo in luce l'importanza di effettuare le indagini tossicologiche in organismi catturati nella medesima stagione. Per questo motivo, vengono riportati, di seguito ad essi, i risultati delle analisi compiute sul crostaceo *Squilla mantis*, comparando, separatamente, misure effettuate in estate e in autunno.

Numero di cellule

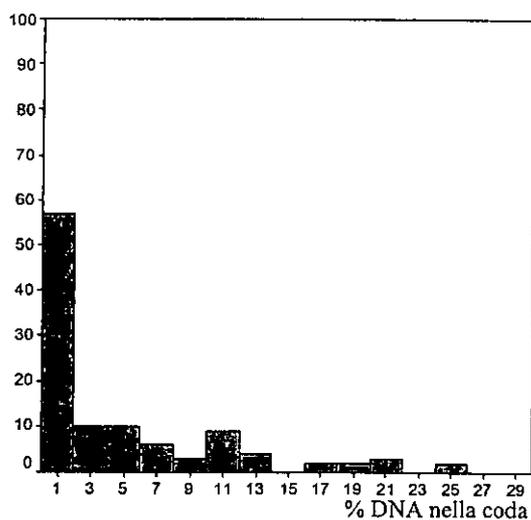


Gaslini - inverno

a)

Gaslini	
Lungh. Cometa (px)	250
Altezza Cometa (px)	225
Area Cometa (px)	57.447
Diametro del nucleo (px)	225
Lungh. Coda (px)	29
Intensità della Coda	126.706
%DNA nella Coda	1
Momento della Coda	0
Momento di Olive	1

Numero di cellule



Gaslini - estate

b)

Gaslini	
Lungh. Cometa (px)	270
Altezza Cometa (px)	166
Area Cometa (px)	21.338
Diametro del nucleo (px)	149
Lungh. Coda (px)	121
Area Coda (px)	2.803
%DNA nella Coda	10
Momento della Coda	30
Momento di Olive	15

Fig. 8.2: Istogrammi di campioni medi di sangue di pesci della specie *Gobius niger* campionati nel sito Gaslini; in ascissa sono riportate le percentuali di danno al DNA e in ordinata il numero di cellule; a) campione rappresentativo del periodo invernale, b) campione rappresentativo del periodo estivo. A fianco, misure dei parametri di danno al DNA.

Risultati ottenuti da *Squilla mantis*:

In figura 8.3 e 8.4 sono riportati i risultati delle analisi tossicologiche effettuate sui crostacei della specie *Squilla mantis* catturati nei siti denominati Monfalcone e S. Croce nel periodo estivo.

In particolare, nel sito denominato Monfalcone è stata effettuata una ricerca sull'influenza della stabulazione controllata degli organismi dopo la cattura. Infatti, da principio si è scelto di stabulare gli organismi allo scopo di permettere un recupero dall'eventuale stress da cattura, evitando così di misurare con il test della cometa tale alterazione.

I risultati ottenuti mettono, però, in luce un effetto di alterazione del DNA che confonde la valutazione; effetto dovuto alla stabulazione stessa, dopo otto giorni di mantenimento degli organismi nelle vasche.

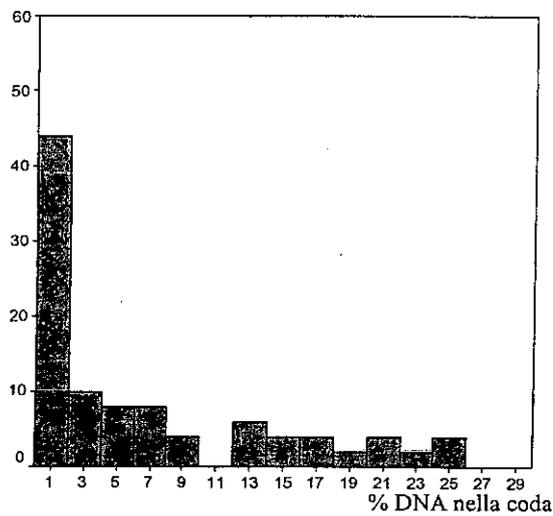
Nella figura 8.3a sono riportati i risultati delle analisi su organismi dopo due giorni di stabulazione e in figura 8.3b dopo otto giorni.

Emerge una situazione compromessa degli organismi catturati del sito Monfalcone, dove sono ben evidenti i danni genotossici. Infatti, più del 50% delle cellule esaminate mostra danno alle substrutture del DNA.

Tuttavia, dopo otto giorni di stabulazione si ha un netto incremento nel numero di cellule danneggiate, infatti si passa dal 50% all'85%, ma il danno misurato dai parametri più rappresentativi (la percentuale di DNA nella coda, la lunghezza della coda, i momenti della coda e di Olive) rimane maggiore negli organismi stabulati solamente per due giorni.

Ancora per quanto riguarda le indagini estive, in fig. 8.4 sono riportati i risultati delle analisi sui crostacei del sito S. Croce. Il pescato di tale sito può essere ritenuto in buone condizioni, in considerazione del fatto che un'alta percentuale (più del 55%) di cellule, presenta nuclei integri e che tale risultato viene amplificato, se si considera l'eventuale effetto negativo della stabulazione dopo ben 7 giorni di permanenza dei crostacei nelle vasche.

Numero di cellule

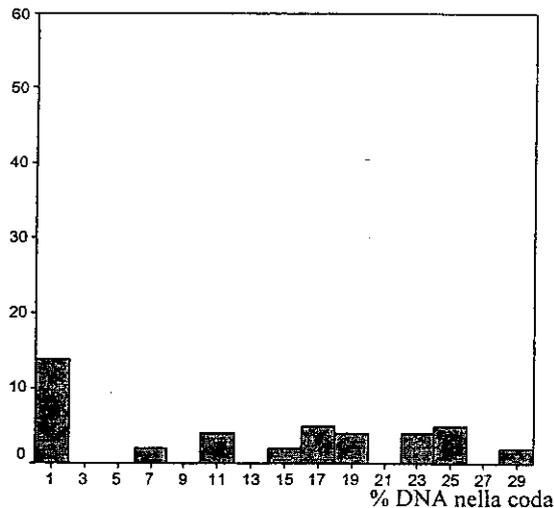


Monfalcone 23/06 (21/06) 2g	
Lungh. Cometa (px)	549,2
Altezza Cometa (px)	439,8
Area Cometa (px)	179854,0
Diametro del nucleo (px)	296,1
Lungh. Coda (px)	253,1
Area Coda (px)	104263,5
%DNA nella Coda	49,4
Momento della Coda	169,4
Momento di Olive	71,5

Monfalcone - estate

a)

Numero di cellule



Monfalcone 29/06 (21/06) 8g	
Lungh. Cometa (px)	557,9
Altezza Cometa (px)	507,5
Area Cometa (px)	219915,7
Diametro del nucleo (px)	358,1
Lungh. Coda (px)	199,8
Area Coda (px)	83445,3
%DNA nella Coda	37,6
Momento della Coda	111,0
Momento di Olive	56,6

Monfalcone - estate

b)

Fig. 8.3: Istogrammi di campioni medi di emolinfa del crostaceo *Squilla mantis* campionati nel sito Monfalcone; in ascissa sono riportate le percentuali di danno al DNA e in ordinata il numero di cellule; a) campione rappresentativo delle specie analizzate dopo due giorni di stabulazione controllata, b) campione rappresentativo delle specie analizzate dopo otto giorni di stabulazione controllata. A fianco, misure dei parametri di danno al DNA.

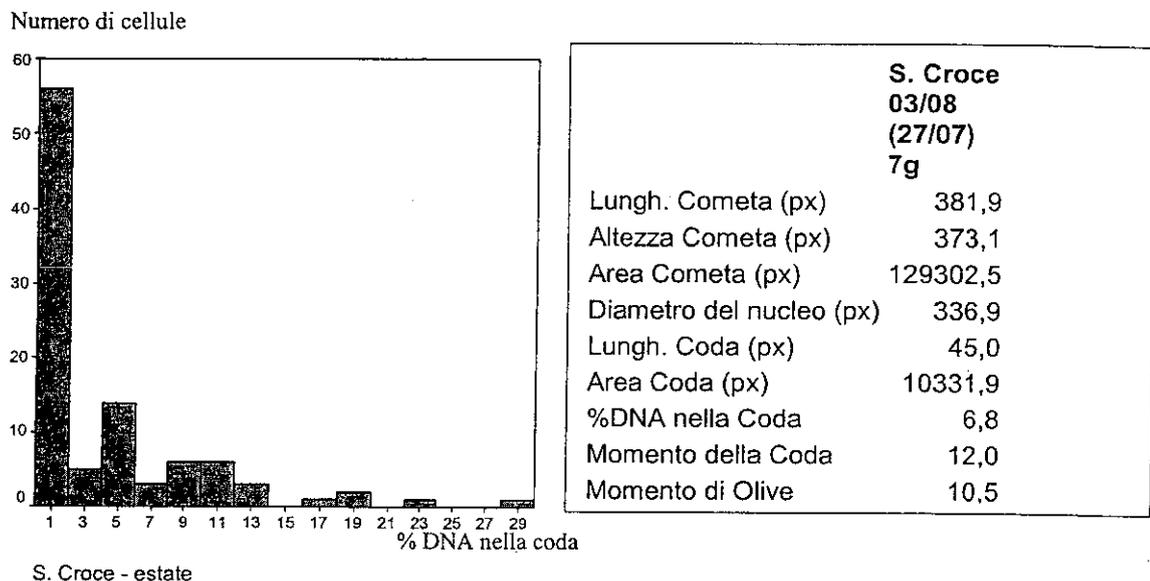


Fig. 8.4: Istogrammi di campioni medi di emolinfa del crostaceo *Squilla mantis* campionati nel sito S. Croce; in ascissa sono riportate le percentuali di danno al DNA e in ordinata il numero di cellule. A fianco, misure dei parametri di danno al DNA.

I campionamenti autunnali hanno interessato i siti: Gaslini, Sistiana e Villaggio del pescatore.

La figura 8.5 (sito Gaslini) mostra un andamento dei risultati in parziale accordo con quelli ottenuti dai crostacei catturati nel sito denominato Monfalcone, per quanto riguarda gli effetti da stabulazione.

Infatti, analizzando i crostacei del sito Gaslini emerge evidenza della riduzione del numero delle cellule i cui nuclei sono integri, già dopo un giorno di stabulazione.

Tuttavia, la situazione del pescato nel sito Gaslini risulta migliore rispetto al sito Monfalcone, i nuclei integri superano il 50 % delle cellule analizzate se consideriamo come rappresentative le analisi condotte su prelievi di emolinfa effettuati il giorno stesso della pescata.

In figura 8.6a sono riportati i risultati delle analisi sui crostacei del sito Sistiana dopo un solo giorno di stabulazione. Quasi il 60% delle cellule considerate non presenta danni alla substruttura del DNA. Tali risultati indicano il sito Sistiana come il sito con la miglior qualità di pescato.

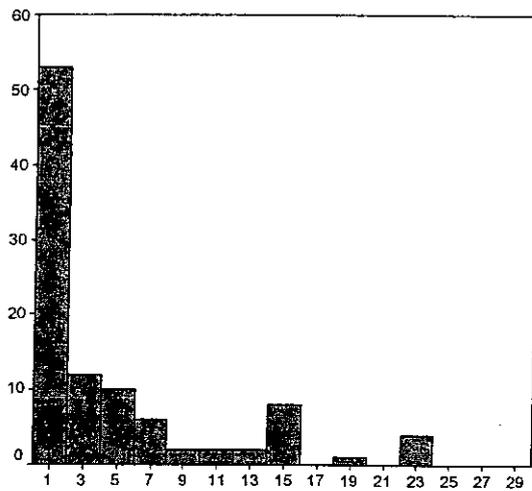
Infine, in figura 8.6b viene presentata la situazione più compromessa tra quelle analizzate, ovvero il sito Villaggio del Pescatore. Dalla figura emerge una

buona presenza di comete, riscontrabili in una maggior distribuzione delle barre verso valori più alti delle percentuali di DNA nelle code.

Più del 70% delle cellule analizzate presenta alterazioni al DNA.

Questi ultimi risultati sono stati ottenuti prelevando emolinfa da organismi il giorno stesso della cattura.

Numero di cellule



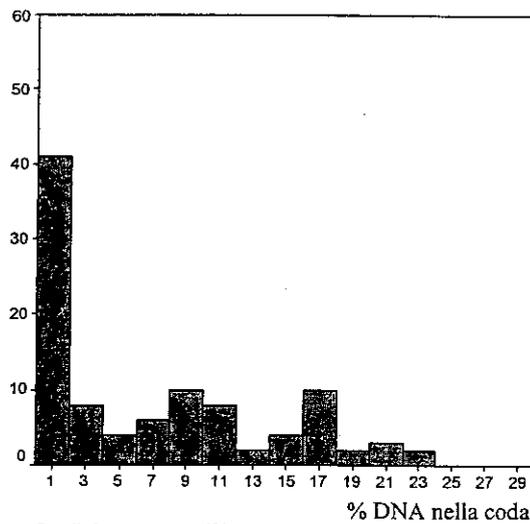
Gaslini - autunno (1)

% DNA nella coda

a)

Gaslini(diga) 27/10(27/10)0g	
Lungh. Cometa (px)	376,4
Altezza Cometa (px)	372,2
Area Cometa (px)	104561,2
Diametro del nucleo (px)	363,1
Lungh. Coda (px)	13,3
Area Coda (px)	5829,7
%DNA nella Coda	4,6
Momento della Coda	1,3
Momento di Olive	6,0

Numero di cellule



Gaslini - autunno (2)

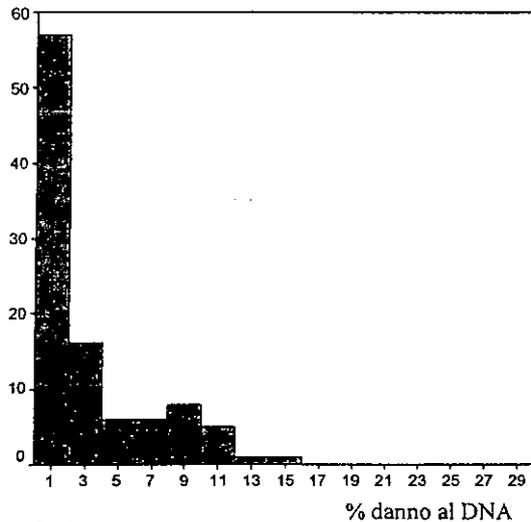
% DNA nella coda

b)

Gaslini(diga) 28/10(27/10) 1g	
Lungh. Cometa (px)	375
Altezza Cometa (px)	376
Area Cometa (px)	104199,6182
Diametro del nucleo (px)	356,2
Lungh. Coda (px)	18,8
Area Coda (px)	7427,1
%DNA nella Coda	6,5
Momento della Coda	2,5
Momento di Olive	8,4

Fig. 8.5: Istogrammi di campioni medi di emolinfa del crostaceo *Squilla mantis* campionati nel sito Gaslini; in ascissa sono riportate le percentuali di danno al DNA e in ordinata il numero di cellule; a) campione rappresentativo delle specie analizzate immediatamente dopo la pescata, b) campione rappresentativo delle specie analizzate un solo giorno di stabulazione controllata. A fianco, misure dei parametri di danno al DNA.

Numero di cellule

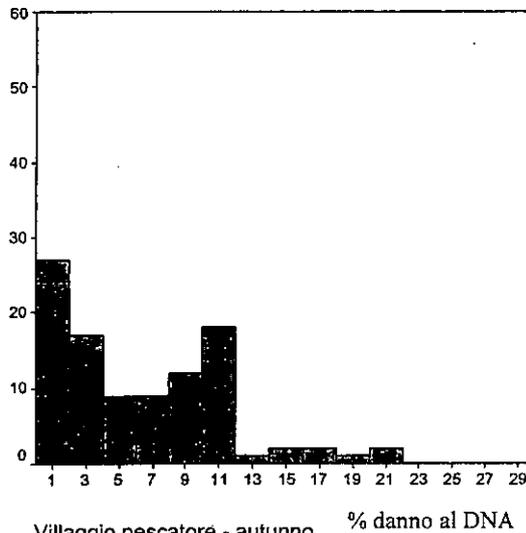


Sistiana - autunno

a)

Sistiana 19/10 (18/10) 1g	
Lungh. Cometa (px)	364,3
Altezza Cometa (px)	358,8
Area Cometa (px)	100756,5
Diametro del nucleo (px)	340,6
Lungh. Coda (px)	23,7
Area Coda (px)	4025,3
%DNA nella Coda	3,0
Momento della Coda	1,7
Momento di Olive	4,3

Numero di cellule



Villaggio pescatore - autunno

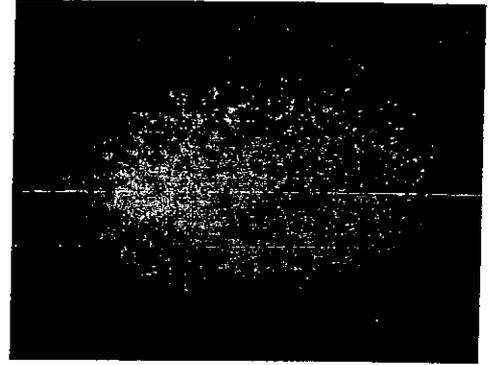
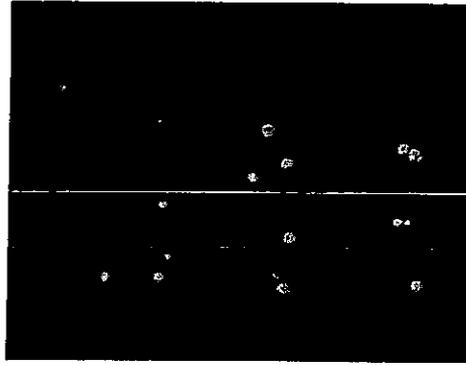
b)

Villaggio Pescatore 14/11 (14/11) 0g	
Lungh. Cometa (px)	394,5
Altezza Cometa (px)	393,0
Area Cometa (px)	117476,7
Diametro del nucleo (px)	359,9
Lungh. Coda (px)	34,7
Area Coda (px)	8930,9
%DNA nella Coda	6,2
Momento della Coda	2,9
Momento di Olive	8,7

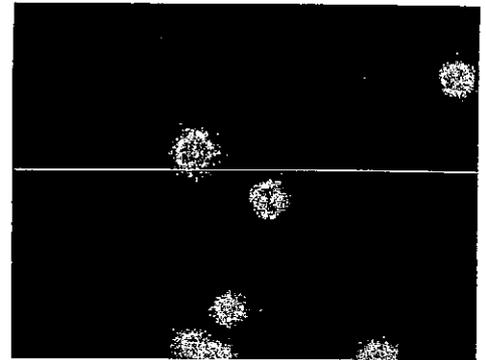
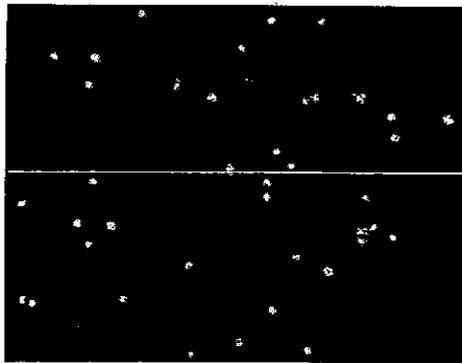
Fig. 8.6: Istogrammi di campioni medi di emolinfa del crostaceo *Squilla mantis* campionati nel sito Sistiana (a), e nel sito Villaggio del pescatore(b); in ascissa sono riportate le percentuali di danno al DNA e in ordinata il numero di cellule. A fianco, misure dei parametri di danno al DNA.

Vengono di seguito riportate (Fig. 8.7, Fig. 8.8 e Fig. 8.10) alcune delle fotografie rappresentative delle specie campionate nei diversi siti geografici. Si possono apprezzare le differenze tra nuclei interi con una buona luminosità dovuta alla maggior presenza di eliche di DNA integre e comete con nuclei più o meno ridotti a causa dello spostamento del materiale genetico frammentato, nella coda.

a)



b)



c)

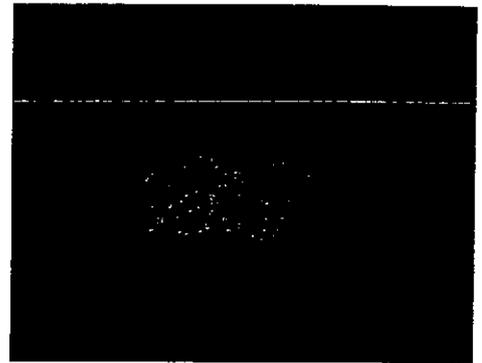
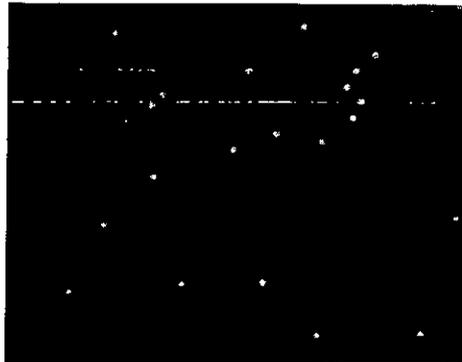
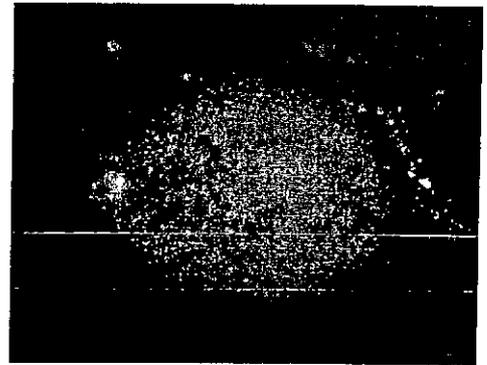
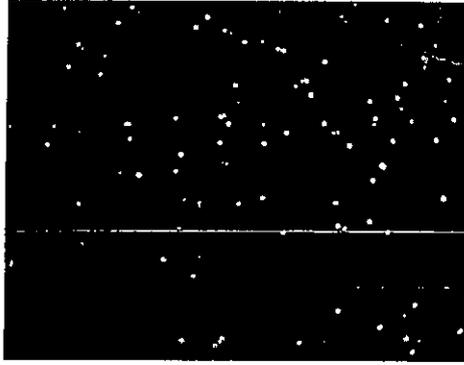
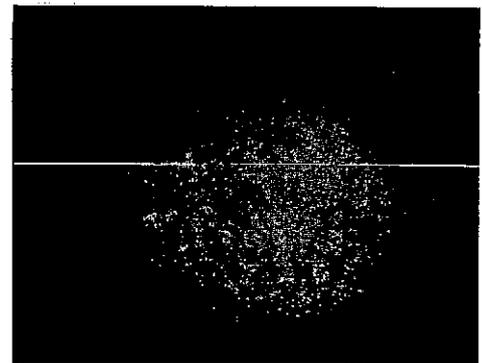
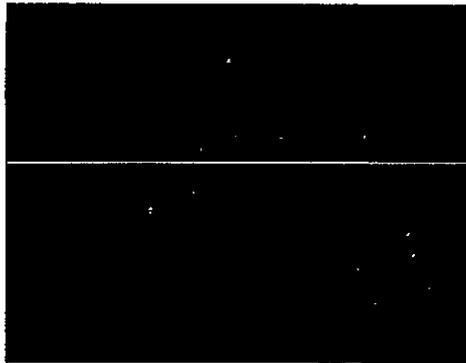


Fig. 8.7: Fotografie di nuclei di eritrociti di *Gobius niger*, al microscopio a fluorescenza con filtro rodamina e con obiettivi 10x e 100x, a) fotografia di nuclei di eritrociti dal campione controllo positivo, b) fotografia di nuclei di eritrociti dal campione del sito Gaslini – inverno, c) fotografia di nuclei da campione di eritrociti dal campione del sito Gaslini – estate.

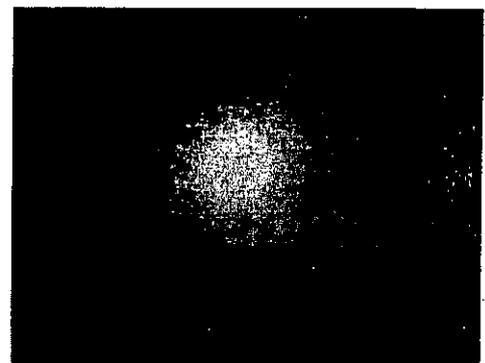
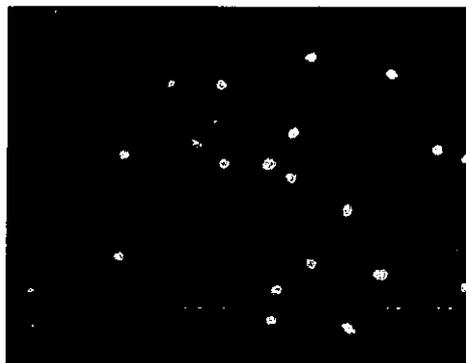
a)



b)

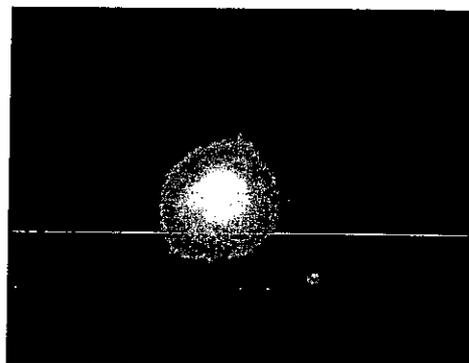
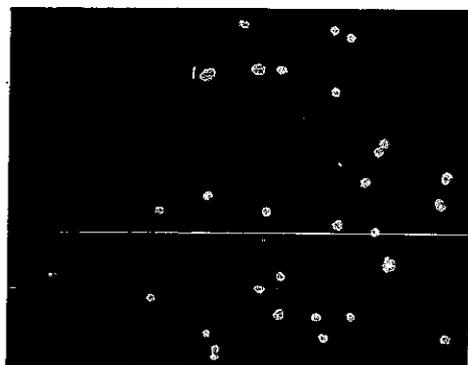


c)

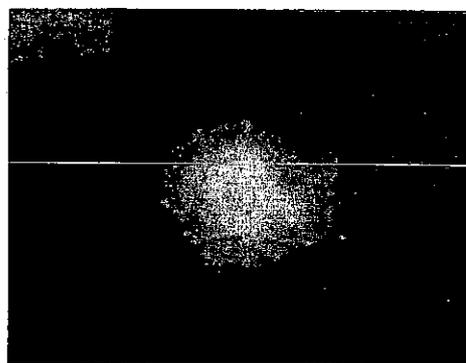
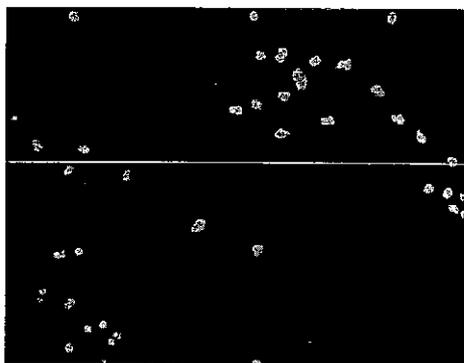


*Fig. 8.8: Fotografie di nuclei di emociti di **Squilla mantis**, al microscopio a fluorescenza con filtro rodamina e con obiettivi 10x e 100x, a) fotografia di nuclei di emociti dal campione del sito Monfalcone - 2 giorni di stabulazione, b) fotografia di nuclei da campione di emociti dal campione del sito Monfalcone - 8 giorni di stabulazione, c) fotografia di nuclei da campione di emociti dal campione del sito S. Croce - 1 giorno di stabulazione.*

a)



b)



c)

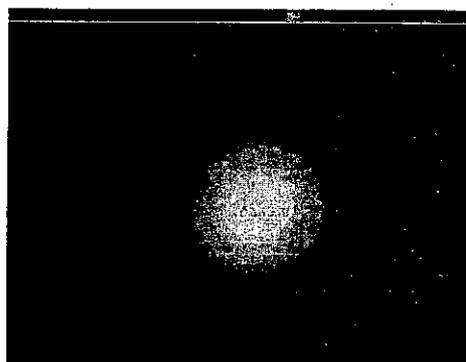
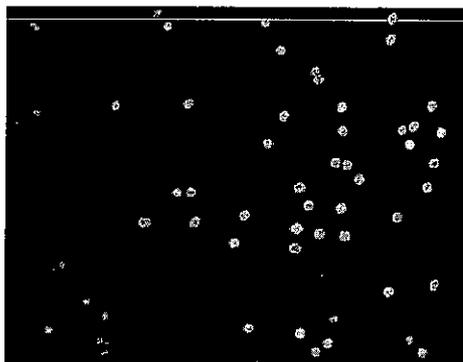
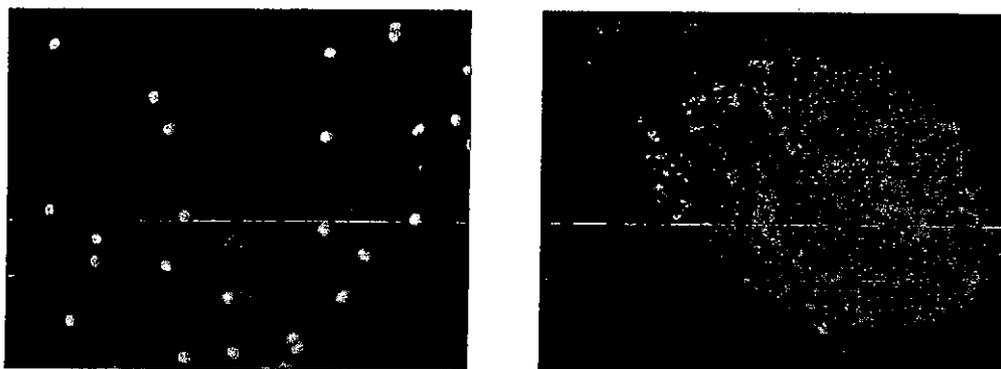


Fig. 8.9: Fotografie di nuclei di emociti di *Squilla mantis*, al microscopio a fluorescenza con filtro rodamina e con obiettivi 10x e 100x, a) fotografia di nuclei di emociti dal campione del sito Gaslini - 0 giorni di stabulazione, b) fotografia di nuclei da campione di emociti del sito Gaslini - 1 giorno di stabulazione, c) fotografia di nuclei da campione di emociti dal campione del sito Sistiana - 2 giorni di stabulazione.



*Fig. 8.10: Fotografie di nuclei di emociti di **Squilla mantis**, al microscopio a fluorescenza con filtro rodamina e con obiettivi 10x e 100x, a) fotografia di nuclei di emociti dal campione del sito Villaggio del pescatore - 0 giorni stabulazione.*

9. DISCUSSIONE

I dati riportati nel precedente capitolo, rappresentano il primo studio esteso sulla concentrazione di contaminanti organici persistenti potenzialmente tossici nei prodotti della pesca e della maricoltura della Regione Friuli Venezia Giulia. Essi contengono una mole di informazione notevole e verranno commentati alla luce delle indicazioni di regolamentazione sulla sicurezza alimentare vigenti e di prossima applicazione e alla luce degli obiettivi del progetto.

9.1 Confronto dei risultati con valori di riferimento

Si osserva che l'unico tra i contaminanti considerati per cui vi siano indicazioni normative sulle concentrazioni ammesse nei prodotti commestibili marini è il benzo(a)pirene, che appartiene alla classe degli IPA. Per quel che riguarda i PCB, alcuni di essi saranno tra poco regolamentati dalla Comunità Europea, mentre non risultano disponibili valori soglia ufficiali per i pesticidi in pesci, crostacei o molluschi.

Per quel che riguarda la normativa che regola la presenza degli idrocarburi policiclici aromatici nei crostacei, nei pesci e nei molluschi bivalvi, si segnala la recente introduzione di nuovi limiti massimi ammessi per i prodotti alimentari per il solo benzo(a)pirene, stabiliti dal Regolamento della Commissione Europea 208/2005 del 4 febbraio 2005, che sono entrati in vigore negli stati dell'Unione il giorno 1 aprile 2005. I valori massimi ammessi espressi come microgrammi di contaminante su chilogrammo di prodotto (peso umido) sono rispettivamente per i crostacei 5 µg/kg, per la polpa di pesce 2 µg/kg, per i molluschi bivalvi 10 µg/kg.

Il regolamento fornisce anche indicazioni sulle metodiche di campionamento ed analisi da impiegare.

Si riportano nei grafici 9.1, 9.2 e 9.3 i risultati delle analisi relative alle concentrazioni di benzo(a)pirene rispettivamente per *Squilla mantis*, *Gobius niger* e *Mytilus galloprovincialis*, con indicazione dei valori massimi ammessi.

Per il crostaceo *Squilla* i valori superano i limiti massimi ammessi nella zona portuale di Trieste (Sacchetta e Ferriera), ma anche in prossimità della Diga Rizzo e del sito Monfalcone.

Per la polpa del pesce bentonico *Gobius* si ha un superamento dei valori ammessi (molto bassi) per tutti i siti, con eccezione di Monfalcone.

Per la polpa del mollusco *Mytilus* si hanno superamenti dei valori ammessi per i campioni raccolti nei siti contaminati Sacchetta e Ferriera, ma anche per Tubone, Monfalcone e sporadicamente a Punta Olmi.

Benzo(a)pirene in *Mytilus galloprovincialis*

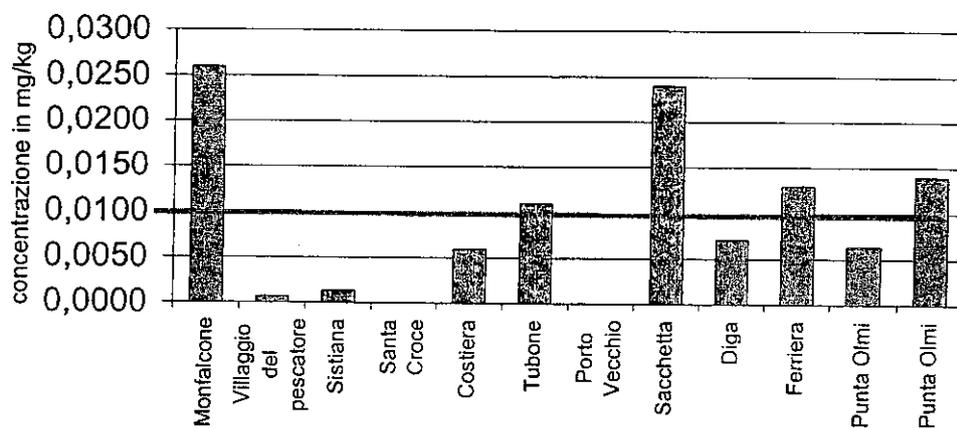


Figura 9.3: concentrazione di benzo(a)pirene nei campioni di Mytilus galloprovincialis raccolti nei vari siti (livello massimo ammesso da regolamento CE 208/2005 = 10 µg/kg = 0,0100 mg/kg – peso umido)

Benzo(a)pirene in Squilla mantis

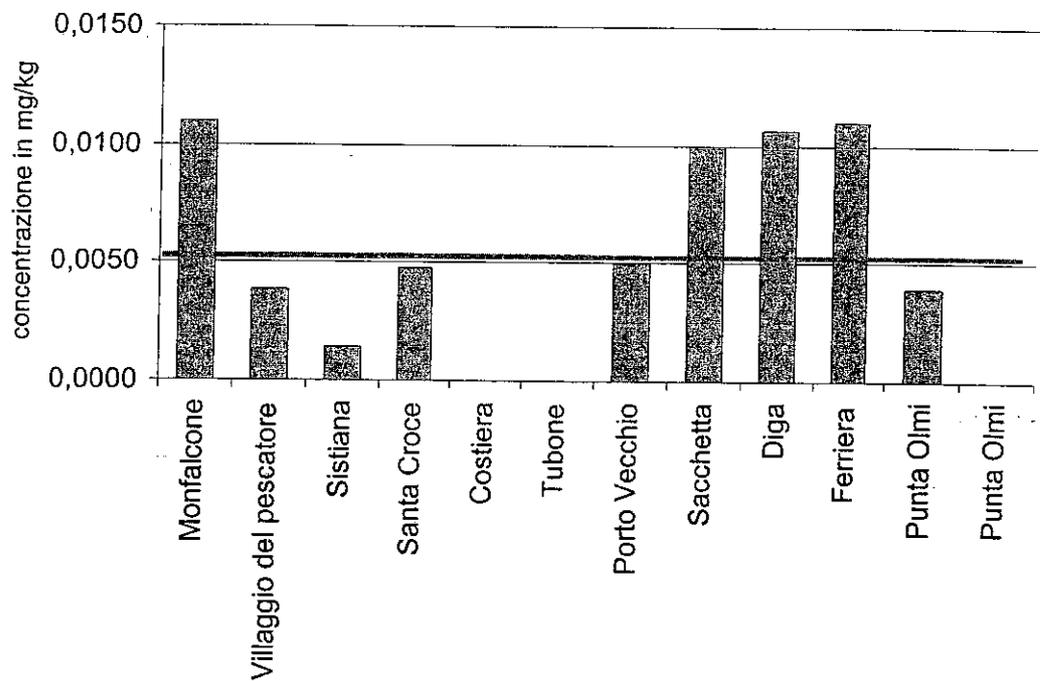
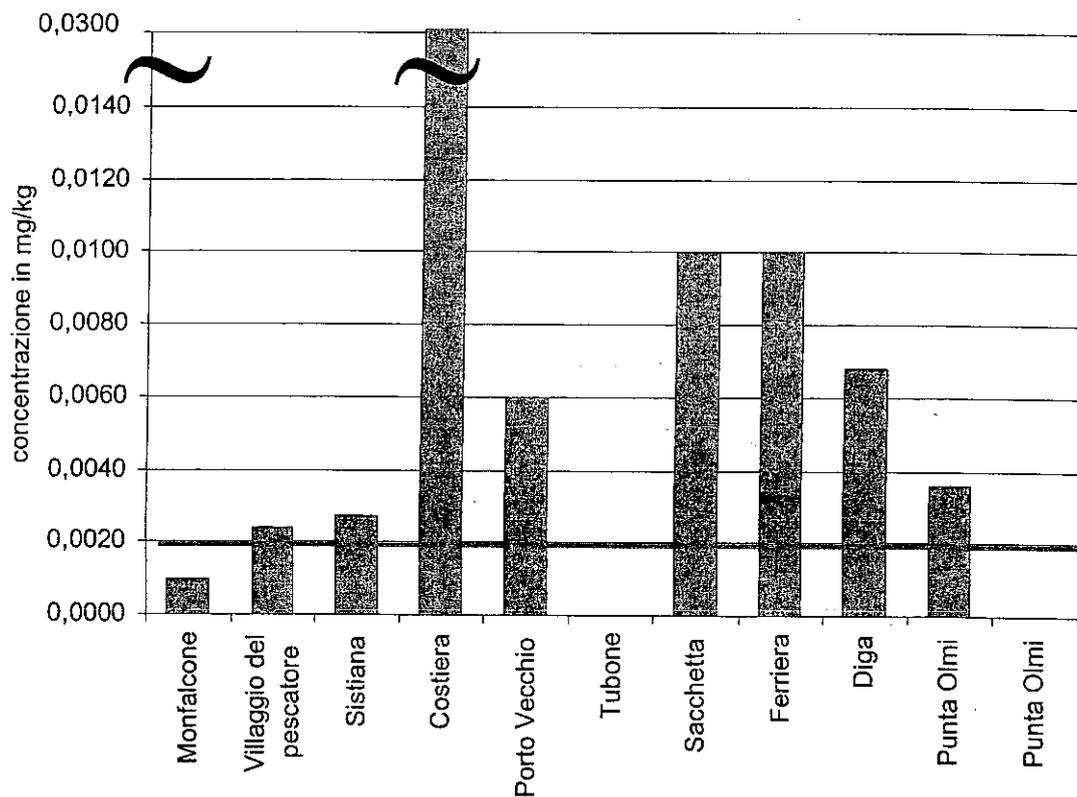


Figura 9.1: concentrazione di benzo(a)pirene nei campioni di Squilla mantis raccolti nei vari siti (livello massimo ammesso da regolamento CE 208/2005 = 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ = 0,0050 mg/kg – peso umido)

Benzo(a)pirene nella polpa di *Gobius niger*



*Figura 9.2: concentrazione di benzo(a)pirene nei campioni di *Gobius niger* raccolti nei vari siti (livello massimo ammesso da regolamento CE 208/2005 = 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ = 0,0020 mg/kg – peso umido)*

Per quel che riguarda i policlorobifenili, alcuni di essi sono assimilati alle diossine per quel che riguarda la tossicità nei confronti dell'uomo e degli organismi viventi. Il 30 maggio 2001 il comitato scientifico per l'alimentazione umana (CSAU) dell'unione europea, ha adottato un parere sulla necessità della valutazione del rischio delle diossine e dei PCB diossina-simili negli alimenti, basato su nuove informazioni scientifiche rese disponibili successivamente all'adozione del parere formulato in merito dal CSAU il 22 novembre 2000.

I PCB sono presenti generalmente come miscele complesse di congeneri e per descrivere in modo aggregato la tossicità equivalente della miscela sono assegnati, ai singoli congeneri, Fattori di Tossicità Equivalente (TEF o WHO-TEF), che rappresentano una stima della tossicità dei vari composti rispetto alla tossicità della 2,3,7,8 -tetra cloro dibenzo diossina (TCDD), a cui è quindi assegnato un TEF pari a 1; i TEF dei diversi congeneri, sono riportati in tabella 9.1.

Le concentrazioni dei diversi PCB possono essere espressi in equivalenti di tossicità di TCDD (unità TEQ) tramite l'impiego di fattori moltiplicativi (TEF) di conversione (van den Berg et al. 1998). Una volta convertite le concentrazioni dei singoli PCB in valori TEQ, questi possono essere sommati in un unico dato TEQ associato al campione.

PCB	n	TEF
TetraClBifenile	77	0,0001
TetraClBifenile	81	0,0001
PentaClBifenile	105	0,0001
PentaClBifenile	114	0,0005
PentaClBifenile	118	0,0001
PentaClBifenile	123	0,0001
PentaClBifenile	126	0,1000
HexaClBifenile	156	0,0005
HexaClBifenile	157	0,0005
HexaClBifenile	167	0,0000
HexaClBifenile	169	0,0100
HeptaClBifenile	189	0,0001

Tabella 9.1: Fattori di tossicità equivalente dei PCB diossina-simili.

Le stime dell'esposizione indicano che una parte considerevole della popolazione della Comunità assume tali sostanze con gli alimenti, al di là della dose ammissibile.

Secondo il Regolamento (EC) No 466/2001, la Commissione Europea avrebbe dovuto rivedere il livelli massimi ammissibili di contaminanti ammessi in alcuni alimenti - tra cui i pesci e prodotti della maricoltura - entro il 31 dicembre 2004, includendo per la prima volta i PCB diossina simili. Ad oggi non risulta che questi valori siano stati pubblicati, anche se le più recenti proposte della commissione indicano come massimi valori ammessi 8 ng/kg espressi come WHO-TEQ (Karl, Ruoff, 2005).

Si riportano i valori dei TEQ relativi ai PCB diossina simili che possono esser comparati con il valore proposto come massimo ammissibile per la somma di diossine e PCB diossina simili nel pescato, nella figura 9.4.

Valori eccedenti i limiti proposti si trovano per campioni del crostaceo Squilla campionato in Sacchetta (36,5 ng/kg), polpa del pesce Gobius nel sito Diga Rizzo (173,0 ng/kg) oltre che nei sedimenti della Costiera (32,0 ng/kg).

TEQ PCB DL (ug/kg)

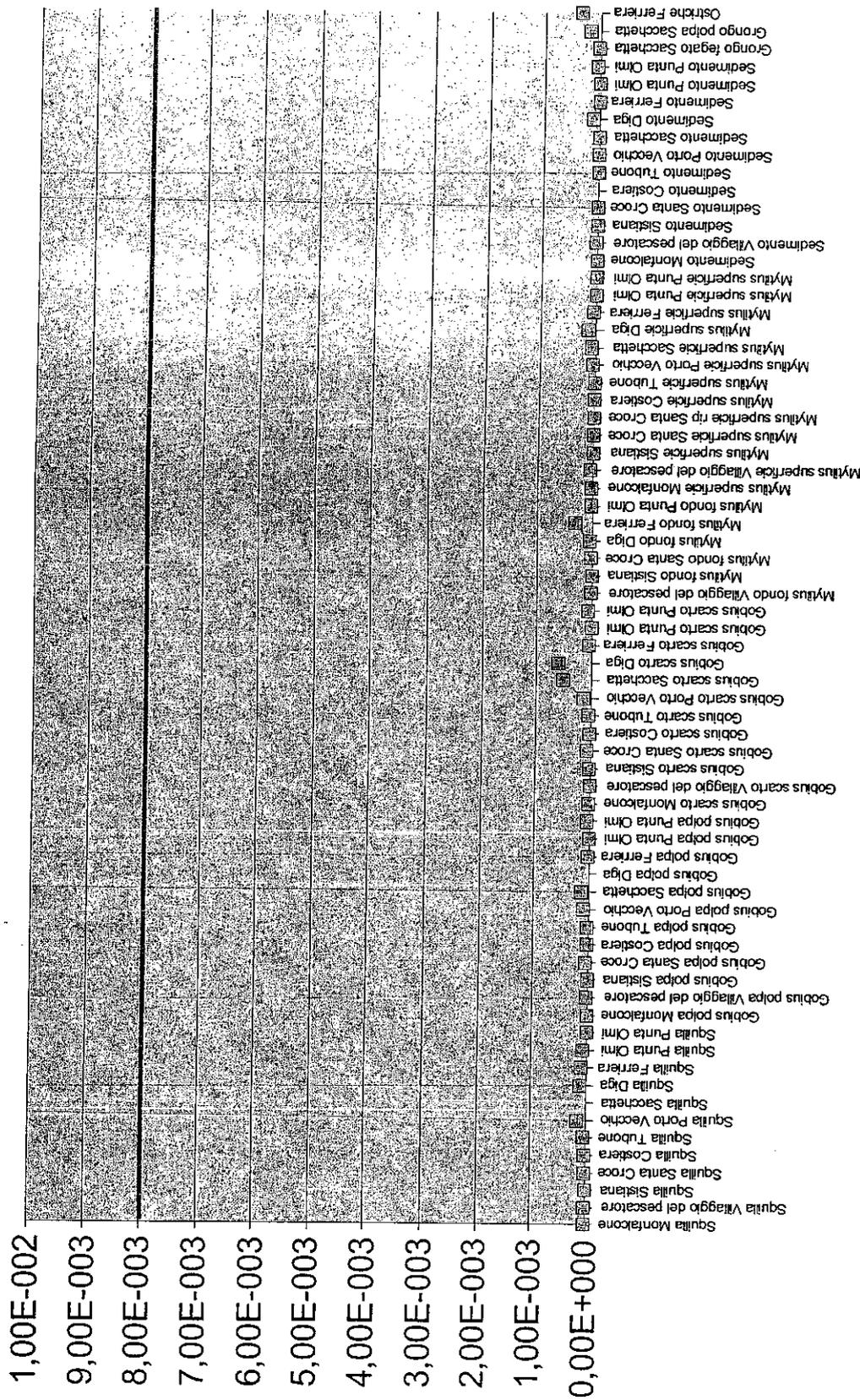


Figura 9.4: Equivalenti di tossicità (TEQ) calcolati sulla base delle concentrazioni dei PCB diossina simili per le matrici analitiche considerate; i valori vanno comparati con il valore proposto per il livello massimo ammissibile per le TEQ di (diossine + PCB diossina simili) = 8 ng/kg = 0,008 ug/kg. Valori eccedenti i limiti proposti si trovano per Squilla campionata in Sacchetta (36,5 ng/kg), polpa di Gobius nel sito Diga Rizzo (173,0 ng/kg) oltre che nei sedimenti della Costera (32,0 ng/kg).

9.2 Valutazione delle differenze di concentrazione tra polpa ed interiora per *Gobius niger*

Al fine di verificare se la polpa del *Gobius*, pesce bentonico, accumuli un minor quantitativo di inquinanti PBT rispetto allo scarto (interiora, testa e lisce) si sono analizzate le concentrazioni di IPA, PCB e pesticidi clorurati nella polpa e nello scarto degli esemplari catturati. I risultati, che considerano i quantitativi totali di IPA, PCB e pesticidi nelle varie matrici, sono riportati nella figura 9.5.

Si osserva come, con rare eccezioni, le concentrazioni per tutti i contaminanti nello scarto siano superiori a quelle della polpa.

9.3 Valutazione delle differenze di concentrazione tra esemplari di *Mytilus galloprovincialis* raccolti in superficie e sul fondo marino

Al fine di verificare se la polpa di *Mytilus galloprovincialis*, bivalve filtratore, accumuli i contaminanti PBT in maniera diversa in prossimità del fondo e in prossimità della superficie delle acque marine, si sono analizzate le concentrazioni di IPA, PCB e pesticidi clorurati in esemplari raccolti nei punti estremi della colonna d'acqua.

in tutti i casi in cui è stato possibile individuare e raccogliere questi ultimi.

L'ipotesi di lavoro che si è inteso verificare tiene conto che in prossimità del fondo ci può essere un maggior quantitativo di materiale particellato su cui possono aderire IPA, PCB e pesticidi.

I risultati, che considerano i quantitativi totali di IPA, PCB e pesticidi in superficie e sul fondo nei siti campionati, sono riportati nella figura 9.6.

L'esame grafico dei dati ottenuti non evidenzia marcate regolarità; la relativa scarsa frequenza dei mitili sui fondali dei siti campionati non consente di trarre conclusioni generali.

9.4 Considerazioni conclusive

I risultati del presente studio costituiscono la prima indagine estesa sulla presenza di composti organici persistenti, bioaccumulabili e tossici (PBT) in organismi marini di interesse commerciale. Sono stati analizzati 16 idrocarburi policiclici aromatici, 30 policlorobifenili e 13 pesticidi clorurati in organismi che stanziano in zone critiche per l'accumulo di contaminanti idrofobici, come il crostaceo *Squilla mantis* e il pesce bentonico *Gobius niger* e in un organismo filtratore – *Mytilus galloprovincialis* - che si alimenta filtrando importanti volumi d'acqua ed entrando in contatto con materiale particellato su cui possono aderire i PBT. Tali organismi – di interesse commerciale - possono essere impiegati come organismi sentinella per evidenziare possibili stati di alterazione dell'ecosistema marino, con impatto sugli organismi viventi e possibili ripercussioni sul comparto produttivo della pesca.

Sono stati messi a punto metodi di campionamento ed analisi chimica, oltrechè un metodo di analisi tossicologica (il test della cometa o Single Cell Gel Electrophoresis) che consente di valutare se il DNA degli organismi marini ha subito uno stress genotossico. Le procedure sono descritte nel documento tecnico procedurale allegato alla presente relazione.

I dati ottenuti, a seguito delle analisi chimiche, sono raccolti in una base di dati (in formato MS Access) riportata nel compact disc allegato, e sono integrati in un sistema informativo geografico, parimenti riportato nel compact disc allegato, in formato ESRI ArcGIS.

Le evidenze raccolte sono state valutate alla luce del regolamento comunitario 208/2005 che disciplina la presenza del benzo(a) pirene – un idrocarburo policiclici aromatico – in pesci, crostacei e molluschi per uso alimentare, mostrando una situazione che eccede i livelli ammessi per quel che riguarda la polpa del pesce *Gobius niger*. Per quel che riguarda il crostaceo *Squilla mantis* hanno superamenti oltre che per la zona del porto di Trieste, anche presso la Diga Rizzo e presso il sito Monfalcone. La situazione presso le mitilocolture dei siti Costiera e Villaggio del Pescatore risulta normale, mentre è

auspicabile un'estensione dell'indagine per il sito di Punta Olmi, rispetto al quale un campione rispetta i livelli ammessi, mentre un secondo li supera.

Una valutazione degli equivalenti di tossicità TEQ (calcolati in base alle concentrazioni dei PCB diossina simili), mostra dati anomali per la polpa dei pesci *Gobius niger* campionati presso la Diga Rizzo e per i crostacei *Squilla mantis* campionate in Sacchetta.

Gli IPA tendono ad accumularsi in maniera maggiore nei sedimenti rispetto agli organismi, mentre i contaminanti organici clorurati (PCB e pesticidi) sono distribuiti in maniera meno marcatamente distinta.

S'è anche osservato come, in gran parte dei casi considerati, per quel che riguarda i pesci, siano gli scarti a accumulare quantitativi maggiori di contaminanti, rispetto alla polpa.

Per quel che riguarda le differenze di concentrazione di inquinanti tra mitili di superficie e mitili di fondo, non sono state verificate differenze sistematicamente riconoscibili.

Per quel che riguarda la valutazione dello stress genotossico evidenziato tramite il Test della Cometa, si può osservare come la situazione nei siti Sistiana, Dosso di Santa Croce e Gaslini non mostri criticità evidenti; una marcata alterazione al DNA è invece presente negli eritrociti e negli emociti degli organismi pescati nei siti Villaggio del Pescatore e Monfalcone. La lontananza del sito Villaggio del Pescatore da sorgenti industriali, e i valori sostanzialmente bassi di bioconcentrazione degli inquinanti PBT misurati nel sito, induce a imputare lo stress genotossico a contaminanti non considerati in questo studio. Ad esempio, sarebbe opportuno estendere le indagini a composti organometallici impiegati nelle vernici antivegetative, che sono stati impiegati per molti anni lungo la linea di costa, o a composti presenti naturalmente, come il metilmercurio.

Gli approcci metodologici e le informazioni raccolte rispondono ad un'esigenza scientifica e normativa attuale, e potranno essere impiegati, ad esempio, in risposta alla richiesta recentemente espressa dalla European Food Safety Authority (http://www.efsa.eu.int/science/data_collection/pah/1168_en.html) in merito alla disponibilità di dati sulla presenza di idrocarburi policiclici aromatici in prodotti d'uso alimentare.

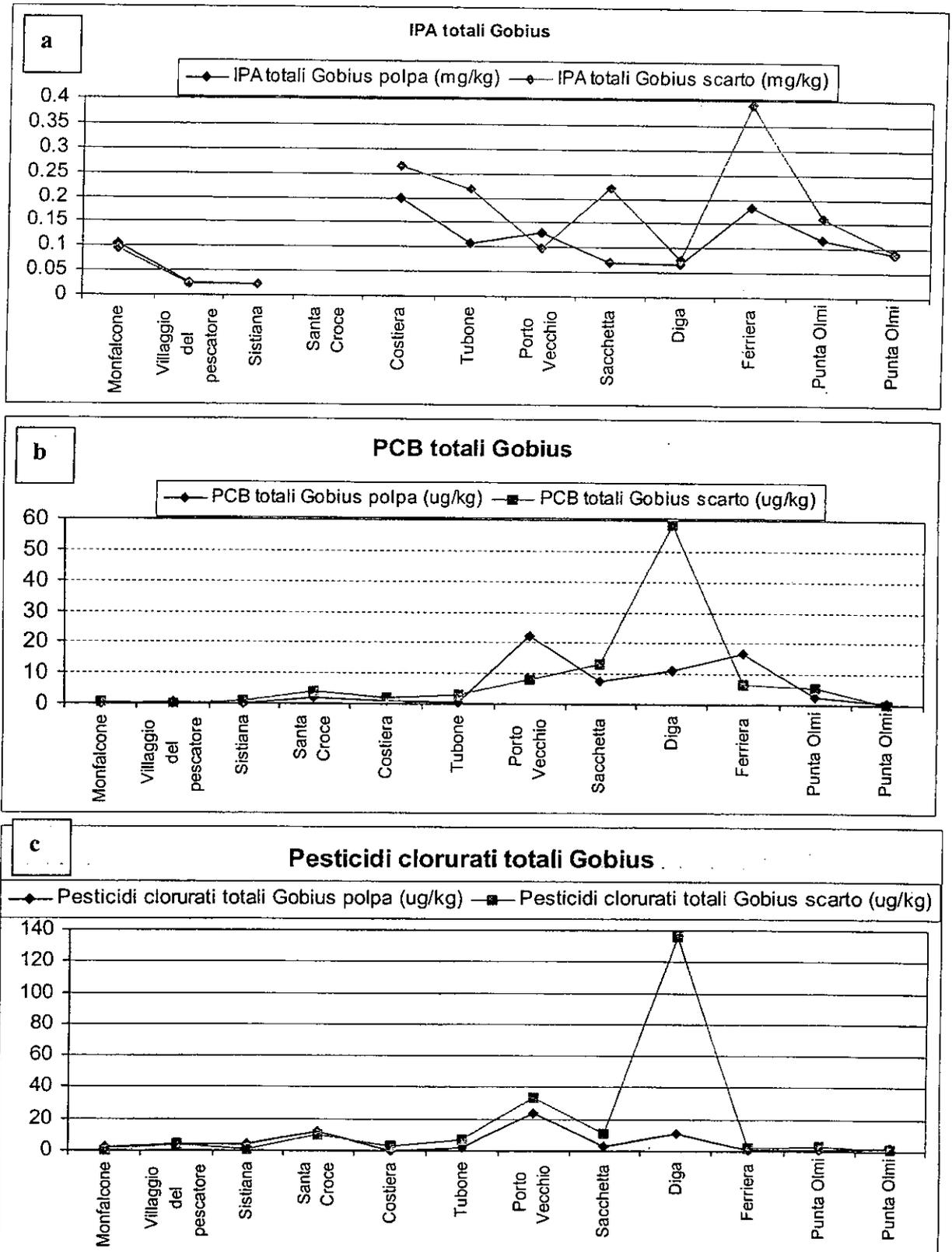


Figura.: 9.5: differenze di concentrazione di contaminanti nella polpa e nello scarto di *Gobius niger*: (a) IPA totali, (b) PCB totali, (c) Pesticidi clorurati totali.

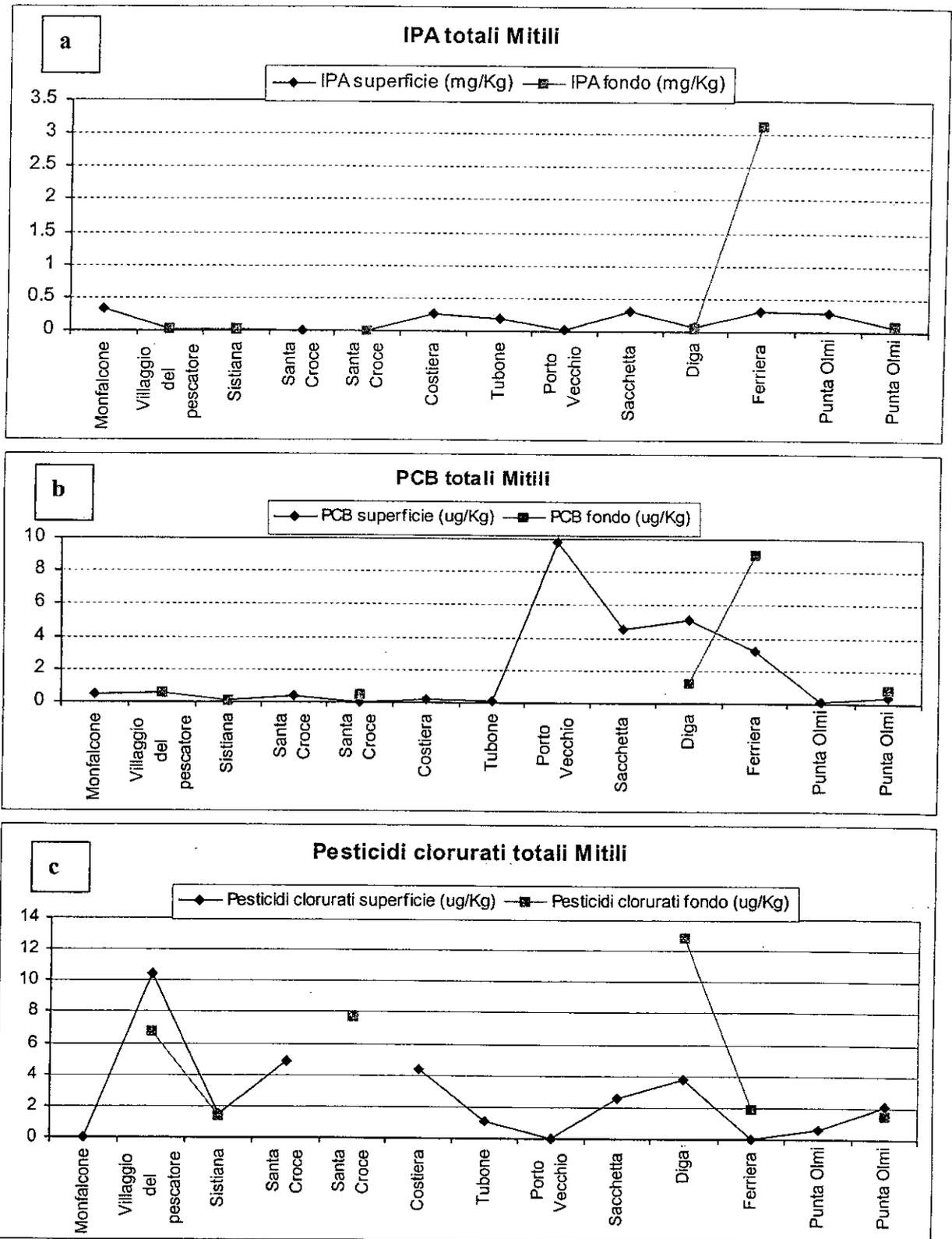


Figura 9.6: differenze di concentrazione di contaminanti nei mitili di superficie e di fondo: (a) IPA totali, (b) PCB totali, (c) Pesticidi clorurati totali.

BIBLIOGRAFIA

- Adami G, Barbieri P., Piselli S., Predonzani S., Reisenhofer E., Detecting and characterising sources of persistent organic pollutants (PAHs and PCBs) in surface sediments of an industrialized area (harbour of Trieste, northern Adriatic Sea), *Journal of Environmental Monit.*, pp.261-265, 2000.
- Bailey G.S., D. E. Williams, J.D. Hendricks, Fish models for environmental carcinogenesis in the rainbow trout, *Environ. Health Perspect.* 104, 1996, pp. 5-21.
- Baumard P., Budzinski H., Garrigues P., *Environ. Toxicol. Chem.*, 17, 765, 1998.
- Beck, H. Occurrence in food human tissues and human milk. Proceedings from the Toxicology Forum on Chlorinated organic chemicals. Their effect on human health and the environment, Berlin, Germany 19–21 September 1994.
- Birnbaum L.S., Developmental effects of dioxins. *Environmental health perspectives*, 103 (Suppl. 7): 89-94, 1995.
- Burgess R.M., Scott K.J., The significance of in-place contaminated marine sediments on the water column: processes and effects, Burton G.A. ed. *Sediment toxicity assessment*. Lewis Publ: 129-165, 1992.
- Caricchia A. M., Chiavarini S., Cremisini C., Martini F. and Morabito R., PAHs, PCBs, and DDE in the Northern Adriatic Sea, *Mar. Pollut. Bull.*, vol. 26 n° 10, pp.581-583, 1993.
- Charlesworth M., Service M., Gibson C.E., PAH contamination of western Irish Sea sediments. *Marine Pollution Bulletin* 44, 1421-1434, 2002.
- Cozzi, R., Protti, P., Ruaro, T., *Analisi chimica strumentale – Vol.C Metodi cromatografici, metodi di misura e trattamento dei dati*, Zanichelli, 1997.

- Cronin M. Moore J. University, Liverpool, Joint Research Center, Ispra, Comunicazione personale.
- Cushman-Roisin B., Gacic M., Poulain P.-M and Artegiani A., Physical Oceanography of the Adriatic Sea, Kluwer Academic Publishers, 6, pp. 167-181, 2001.
- Di Capua E., Giacco M, Gori L, Masseti E., Sbrilli G., Determinazione della tossicità dei sedimenti portuali con *D. Tertiolecta* e *V. Fischeri*, *Biologi Italiani* 9: 42-48, 2001.
- Einax J. W., Zwanziger H. W., Gei* S., *Chemometrics in Environmental Analysis*, VCH, Weinheim (Germany) 1997.
- Faerden, K. Dioksiner i næringsmidler. Oppsummering av analyser i 1989 og 1990 [Dioxins in food]. Oslo, National Food Control Authority, 1991 (SNT-Rapport 4).
- Fein G.G. et al, Prenatal exposure to polychlorinated biphenyls: Effects on birth size and gestational age. *Journal of paediatrics*, 105: 315–320 (1984).
- Guzzella L., de Paolis A., Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Sediments of the Adriatic Sea, *Mar. Pollut. Bull.*, vol. 28 n° 3, pp.159-165, 1994.
- Karl Horst, Ruoff Ulrike Dioxins and dioxin-like PCBs in Fish: Analysis, levels and legal limits VIIIth Polish conference: Dioxins in Industry and Environment, Krakow, Poland, 16-17.06.05.
- Kayali, M.N., Rubio-Barroso, S., Polo-Diez, L.M., Rapid PAH determination in urban particulate air samples by HPLC with fluorimetric detection and programmed excitation and emission wavelength pairs. *Journal of Chromatographic Science*, Vol. 33, April 1995.
- Klaude M., Eriksson S., Nygren J., Ahnstron G. 1996. The comet assay mechanisms and technical considerations. *Mut. Res.* 363, pp. 89-96.
- Kurelec B., The genotoxic disease syndrome, *Mar. Environ. Res.* 35, 1993, pp. 341-348.
- Law, R.J., Kelly C.A., Baker, K.L., Langford, K.H., Bartlett, T., PAHs in sediment, mussels and crustacea around a former gaswork site in Shoreham-by-sea, UK. *Marine Pollution Bulletin* 44 (2002) 903-911.

- Llompart, M., Fingas, M., Li, K., PCBs in SPME and Headspace SPME for the Determination of PCBs water in *Water Samples Anal. Chem.* 1998, 70, 2510-2515.
- Llompart, M., Li, K., Fingas, M., PCBs in Headspace SPME for the determination of PCBs in soils soil & sediment and sediments water slurry *J. Microcolumn Sep.* (1999), 11(6), 307-402.
- Mackay D. *Multimedia Environmental Models, the fugacity approach*, Lewis Publishers, 2001.
- Majors, R. E., *Journal of Chromatography Science*, 1973, 1, 92.
- Martin G.G., J.E. Hose, "Vascular Elements and blood (Emolinph)", in: *Microscopic anatomy of invertebrates*. Frederick W. Harrison Editor, 1992, Vol. 10, pp. 117-146.
- McKelvey-Martin V.J., Green MHL, Schmezer P., Pool-Zobel B:L., De Meo M.P., Collins A. 1993, The single gel electrophoresis assay (comet assay): A European review. *Mut. Res.* 288, pp. 47-63.
- Meloun M., Militky J. and Forina M., *Chemometrics for Analytical Chemistry; volume 1: PC-aides statistical data analysis*, Ellis Horwood, Great Britain 1992.
- Miller J.A., Miller E.C. Ultimate chemical carcinogens as reactive mutagenic electrophiles. In: H.H. Hiatt, J.D. Watson, J.A. Winsten (Eds.). *Origins of human cancer*. Cold Spring Harbor Laboratory. 1977, pp.605-628.
- Mocarelli P., Seveso: a teaching story, *Chemosphere*, 43, pag. 391-402, 2001.
- Moraes de Andrade V., Freitas T.R.O., De Silva J. Comet assay using mullet (*Mugil sp.*) and sea catfish (*Netuma sp.*) erythrocytes for the detection of genotoxic pollutants in aquatic environment. 2004, *Mutation Research*, 560, pp. 57-67.
- Norusis M., *The SPSS Guide to Data Analysis*, SPSS Inc., Chicago 1990.
- Notar Marko, Hermina Leskovsek, Jadran Faganelli, *Composition, Distribution and Sources of polycyclic Aromatic Hydrocarbons in*

Sediments of the Gulf of Trieste, Northern Adriatic Sea, *Marine Pollution Bulletin*, Vol. 42, n.1, pp.36-44, 2001.

- Ohura, T., Sugiyama, T., Amagai, T., Simultaneous liquid chromatographic determination of 39 PAHs in indoor and outdoor air and application to a survey on indoor air pollution in Fuji, Japan. *Journal of AOC INTERNATIONAL* vol. 85, No. 1, 2002.
- Ollivon D., Garban B. and Chesterikoff A., Analysis of the distribution of some polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments and suspended matter in the river Seine (France), *Water, Air and Soil Pollution*, 81, pp.135-152, 1995.
- Östling O., Johanson K.J. 1984, Microelectrophoretic study of radiation induced DNA damages in individual mammalian cell. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 123, pp. 291-298.
- Paoletti R., Nicosia S., Clementi F., Fumagalli G., *Trattato di farmacologia e tossicologia* UTET, 1998.
- Pavlica M., Klobucar G.I.V., Mojas N., Radovan E., Drazena P. Detection of DNA damage in haematocytes of zebra mussel using comet assay. 2001, *Mutation Research*, 490, pp.209-214.
- Pawliszyn J., Belardi P., The application of chemically modified fused silica fibers in extraction of organics from water matrix samples, and their rapid transfer to capillary column, *Water Pollution Research J. Canada*, 24, pag. 179, 1989.
- Romano E., Ausili A., Zharova N., Magno M.C., Pavoni B., Gabellini M., Marine sediment contamination of an industrial site at Port of Bagnoli, Gulf of Naples, Southern Italy, *marine Pollution Bulletin* 49, 487-495, 2004.
- Shirey R.E., Mindrup R.F., A systematic approach for selecting the appropriate SPME fiber, *SUPELCO* 1998.
- Sigvardson, K.W., and Birks, J.W., *Journal of Chromatography*, 1984, 316, 507.
- Silberhorn, E.M., Glauert, H.P. & Robertsson, L.W. Carcinogenicity of polyhalogenated biphenyls: PCBs and PBBs. *CRC critical review of toxicology*, 20: 440–496 (1990).

- Singh N.P., M.T. McCoy, R.R. Tice and E.L. Schneider. A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. 1988, *Exptl. Cell. Res.*, 175, pp. 184-191.
- Skoog A., West D.M., Holler F.J., Saunders College Publishing, *Fundamentals of Analytical Chemistry*, 7th Ed, 1996.
- SPSS Inc., *SPSS STATISTICAL ALGORITHMS* by SPSS Inc., Chicago 1985.
- Svensson B.G. et al, Exposure to dioxins and dibenzofurans through consumption of fish. *New England journal of medicine*, 324: 8–12 (1991).
- Tessier A, Campbell PGC, Partitioning of trace metals in sediments: relationships with bioavailability, *Hydrobiologia* 149: 43-52, 1987.
- Thompson, D.J. and Ellenson, W.D., *Journal of Chromatography*, 1989, 485, 60.
- Tice R.R., Andrews P.W., Hirai O., Singh N.P. 1991, the single cell gel (SCG) assay: an electrophoretic technique for the detection of DNA damage in individual cells. In: Witmer C.R., Snyder R.R., Jollow D.J., Kalf G.F., Kocsis J.J., Sipes I.G. editors. *Biological reactive intermediates IV. Molecular and cellular effects and their impact on human health*. New York: Plenum Press, p. 157-164.
- Todeschini .R, *Introduzione alla chemiometria*, EdiSES, 1987.
- van den Berg, M; Birnbaum, L; Bosveld, ATC; et al. (1998) Toxic equivalency factors (TEFs) for PCBs, PCDDs, PCDFs for humans and wildlife. *Environ Health Perspect* 106(12):775-792.
- Van Leeuwen C.J., Hermens J.L.M., *Risk assesment of chemicals: an introduction*, 1995.
- Veigl, F., Posch, W., Lindner, W., and Tritthart, P., *Chromatographia*, 1994, 38, 1999.
- Vermeire T.G. e altri, European Union System for the Evaluation of Substances (EUSES). Principles and structure, *Chemosphere*, 34(8), pag. 1823-1836, 1997.

- Vighi M., Bacci E., *Ecotossicologia*, UTET, 1998.
- Weinberg R.A., *Oncogenes, antioncogenes and molecular bases of multistep carcinogenesis*, *Cancer Res.* 49, 1989, pp. 3713-3721.
- Xu, X.B., and Jin, Z.L., *Journal of Chromatography*, 1984, 317, 545.
- Yost, R. W., Ettre L. S., Conlon R. D., *Pratic Introduction to Liquid Fase Chromatography (HPLC)*, Morgan, 1990.
- Zaleski J., Steward R.A., Sikka H.C.1991, *Metabolism of benzo[a]pyrene and (-)- trans-nezo[a]pyrene-7,8-dihydrodiol by freshly isolated hepatocytes from mirror carp. Carcinogenesis.*12, pp.167-174.
- Weinberg R.A.*Oncogenes, antioncogenes and molecular bases of multistep carcinogenesis*, *Cancer Res.* 49, 1989, pp. 3713-3721.

Ringraziamenti

Il gruppo di ricerca in Chimica Ambientale del Dipartimento di Scienze Chimiche dell'Università di Trieste, coordinato dal Dott. Pierluigi Barbieri, ringrazia tutti coloro che hanno contribuito alla realizzazione del presente studio.

Si riconosce il contributo della Dott.ssa Elisa Maran, responsabile per i saggi tossicologici, del Dott. Carlo Battaglini, di Alberto Penzo e di Giovanna Urbanet.

Un sentito ringraziamento va al Servizio tematico analitico del Dipartimento di Trieste dell'ARPA-FVG, e specificamente al Dott. Federico Lutman e a Luigi Giorgini, per il supporto analitico fornito.

Va riconosciuto il contributo della P.S.C.P. Lisert a r.l., e della P.S.C. Ecoscreen a r.l., per le operazioni di campionamento, pretrattamento dei campioni e la realizzazione del sistema informativo geografico. Un ringraziamento particolare va esteso a Michele Doz, ai Dottori Gianpiero Barbieri, Gabriel Bon, Bruno Spallacci e Stefano Kutin.

Si ringraziano il Prof. Enrico Ferrero, la Dott.ssa Simonetta Lorenzon e la Dott.ssa Marzia Martinis del Dipartimento di Biologia dell'Università di Trieste e i Dottori Marco Francese e Daniele Traldi della Shoreline s.c.a r.l. per le preziose discussioni e l'aiuto fornito nell'impostazione degli studi ecotossicologici.