

**Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare — Ministero dell'Economia e delle  
Finanze — Ministero dell'Istruzione, dell'Università, e della Ricerca — Ministero delle Politiche  
Agricole e Forestali**

***Fondo Integrativo Speciale per la Ricerca 2001 — DM 17 Dicembre 2002  
Progetto di Ricerca — ISS Fascicolo N-97***

**Valorizzazione del Prodotto Ittico Nazionale mediante  
Tipizzazione Geografica dell'Esposizione Ambientale a  
Microcontaminanti, della Composizione Acidica delle Carni, e  
delle Condizioni di Benessere delle Specie Allevate**

***Rapporto Finale***

Novembre 2011

***Responsabile Scientifico***

Alessandro DI DOMENICO & Roberto MINIERO

***Rapporto redatto a cura di***

Anna Laura IAMICELI

***con la collaborazione di***

Gianfranco BRAMBILLA & Elena DELLATTE

***Istituto Superiore di Sanità — Roma***

## SOMMARIO

Il pescato nazionale e l'acquacoltura *offshore* possono essere riconosciuti quali settori di rilevante importanza, sia per il fattore umano impiegato sia per la stretta relazione tra filiera ittica e qualità ambientale dell'origine geografica. In questo ambito, lo studio descritto nel presente Rapporto si è posto come obiettivo la valutazione del rischio geografico e la valorizzazione della filiera produttiva. A tal fine sono stati identificati e monitorati alcuni parametri di contaminazione, valore nutrizionale, e benessere del pescato e dell'allevato nazionale.

Tra le sostanze d'interesse tossicologico selezionate dai gruppi dei *persistent organic pollutants* (POP) e delle *persistent and toxic substances* (PTS) per questo studio vi sono i polibromodifenil eteri (PBDE), i policlorobifenili (PCB), le policlorodibenzo-*p*-diossine (PCDD), i policlorodibenzofurani (PCDF), i pesticidi clorurati (es. 4,4'-DDE, 4,4'-DDT, HCB), alcuni metalli e organometalli, e alcuni radionuclidi.

Lo studio ha mostrato che, a eccezione del Hg, i livelli di contaminazione riscontrati risultano mediamente comparabili con quelli Europei o più bassi. Anche nel caso di PCDD, PCDF, e PCB diossina-simili (DL-PCB), per i quali sono stati rilevati dei superamenti dei limiti normativi, il fenomeno sembra riguardare meno del 5 % della totalità dei campioni analizzati.

Per quanto riguarda le aree di campionamento, dove viene esercitata la pesca professionale, le zone di pesca non mostrano differenze apprezzabili tra loro, suggerendo che in tali zone non esistano sorgenti di contaminazione locale.

Per quanto concerne la variabilità fra specie, è stata osservata una specie-specificità d'accumulo sia per i contaminanti organici sia per quelli inorganici. In quest'ambito, il carico corporeo sembra consistentemente dipendere dall'esposizione alimentare e non da quella ambientale, almeno per quanto riguarda i contaminanti organici. Le catene di detrito sembrano essere i vettori della contaminazione del Hg nella catena alimentare umana.

Lo studio ha consentito di evidenziare eccellenti caratteristiche nutrizionali del prodotto ittico studiato, per il basso contenuto di grassi e l'elevato apporto di acidi grassi polinsaturi (PUFA) n3 riscontrati in tutte le specie e, in particolare, in quelle provenienti dall'area del basso Tirreno.

Relativamente alla qualità del prodotto allevato, il tenore lipidico dei prodotti ittici risulta generalmente in linea con le raccomandazioni avanzate dagli organismi ufficiali preposti alla prevenzione delle cardiopatie ischemiche e di altre patologie cronico-degenerative nell'uomo.

Per ciò che concerne le condizioni di benessere del pesce allevato, l'orata e il branzino nelle condizioni di allevamento saggiate nel corso dello studio non sembrano manifestare evidenti sintomi di *stress* cronico.

Relativamente alla valutazione dell'esposizione a PCDD+PCDF+DL-PCB (TEQ<sub>TOT</sub>) e a MeHg, combinando i valori medi ed elevati (95° percentile, Q<sub>.95</sub>) di consumo con dati medi di contaminazione sono stati ottenuti due scenari di esposizione, uno caratterizzato da un'esposizione media e l'altro caratterizzato da un'esposizione elevata. L'esposizione è risultata sempre inferiore alle linee-guida pertinenti: *tolerable weekly intake* (TWI) per TEQ<sub>TOT</sub>, e *provisional tolerable weekly intake* (PTWI) per MeHg. Solo per quest'ultimo, l'esposizione elevata è risultata superiore al PTWI, ma rientrante comunque nel fattore di protezione incluso nella linea-guida.

## **UNITÀ OPERATIVE**

### **Centro di Ricerca Interdipartimentale sulle Tecnologie e l'Igiene degli Allevamenti Intensivi delle Piccole Specie (CRIPS) — Bologna**

|                      |                                           |
|----------------------|-------------------------------------------|
| Paolo Melotti        | Prof. Ordinario, Responsabile Scientifico |
| Achille Franchini    | Prof. Ordinario, Direttore CRIPS          |
| Adele Meluzzi        | Prof. Ordinario, Direttore CRIPS *        |
| Alessandra Roncarati | Prof. Associato                           |
| Stefano Pignata      | Tecnico di Laboratorio                    |
| Andrea Dees          | Collaboratore esterno                     |
| Leila Forlini        | Collaboratore esterno                     |

(\*) Dall'1 Novembre 2009 in sostituzione del Prof. Franchini.

### **COOP Italia — Bologna**

|                  |                                    |
|------------------|------------------------------------|
| Mazzini Giuseppe | Responsabile Innovazione e Valori  |
| Nicola Brina     | Responsabile Qualità settore Carni |
| Carlo Bianchi    | Ispettore Produzione Ittica        |
| Monica Michieli  | Ispettore Produzione Ittica        |

### **FEDERPESCA — Roma**

|                |                               |
|----------------|-------------------------------|
| Giuseppe Palma | Responsabile Igiene e Qualità |
|----------------|-------------------------------|

### **Istituto Superiore di Sanità (ISS), Dipartimento Ambiente e connessa Prevenzione Primaria — Roma**

|                            |                                                                   |
|----------------------------|-------------------------------------------------------------------|
| Vittorio Abate             | CTER                                                              |
| Annalisa Abballe           | Ricercatore                                                       |
| Gianfranco Brambilla       | Primo Ricercatore                                                 |
| Elena De Felip             | Primo Ricercatore, Direttore del Reparto di Chimica Tossicologica |
| Stefania Paola De Filippis | Ricercatore                                                       |
| Elena Dellatte             | Ricercatore                                                       |
| Silvia De Luca             | Ricercatore                                                       |
| Alessandro di Domenico     | Dirigente di Ricerca, Responsabile Scientifico                    |
| Fabiola Ferri              | CTER                                                              |
| Igor Fochi                 | Ricercatore                                                       |
| Anna Rita Fulgenzi         | CTER                                                              |
| Nicola Iacovella           | CTER                                                              |
| Anna Laura Iamiceli        | Ricercatore                                                       |
| Anna Maria Ingelido        | Ricercatore                                                       |
| Anna Maria Lopomo          | CTER                                                              |
| Roberto Miniero            | Ricercatore, Responsabile Scientifico *                           |
| Valentina Marra            | Ricercatore                                                       |

(\*) Dall'1 Marzo 2010, dopo il pensionamento di Alessandro di Domenico

**Istituto per la Dinamica dei Processi Ambientali, Consiglio Nazionale delle Ricerche (IDPA-CNR) — Venezia**

|                |                                                  |
|----------------|--------------------------------------------------|
| Warren Cairns  | IDPA-CNR, Venezia                                |
| Ivo Moret      | Responsabile Scientifico, Università di Venezia  |
| Rossano Piazza | Responsabile Scientifico,* Università di Venezia |
| Clara Turetta  | IDPA-CNR, Venezia                                |
| Stefano Zambon | CO.CO.CO., IDPA-CNR, Venezia                     |

(\*) Dal 1 Novembre 2010, dopo pensionamento del Prof. Moret.

**Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri (IRFMN), Dipartimento Ambiente e Salute — Milano**

|                   |                                                                      |
|-------------------|----------------------------------------------------------------------|
| Renzo Bagnati     | Ricercatore                                                          |
| Giancarlo Bianchi | Tecnico di laboratorio                                               |
| Enrico Davoli     | Ricercatore                                                          |
| Roberto Fanelli   | Capo del Dipartimento Ambiente e Salute,<br>Responsabile Scientifico |
| Elena Fattore     | Ricercatore                                                          |
| Paola Grassi      | Ricercatore (collaboratore esterno)                                  |
| Ettore Zuccato    | Ricercatore                                                          |

**Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Regioni Lazio e Toscana (IZSLT) — Roma**

|                   |                                     |
|-------------------|-------------------------------------|
| Sesto Berretta    | Tecnico Cat. C                      |
| Fabio Busico      | Dirigente                           |
| Fulvia Fiorucci   | Tecnico Cat. D                      |
| Dario Lucchetti   | Chimico (collaboratore esterno)     |
| Katia Russo       | Dirigente                           |
| Paola Triboni     | Tecnico (collaboratore esterno)     |
| Daniela Triolone  | Tecnico Cat. D                      |
| Alessandro Ubaldi | Dirigente, Responsabile Scientifico |

Un riconoscimento particolare è dovuto al Dr. Gennaro Citro (Polo Oncologico Istituto Regina Elena, Roma), *Tutor* del Progetto, per l'aiuto tecnico-scientifico e i preziosi suggerimenti forniti sistematicamente nel corso delle attività. Si desidera inoltre ringraziare l'entusiastica collaborazione di tutte le unità operative e, in particolare, l'unità operativa CRIPS, la COOP Italia, e FEDERPESCA. Si ringraziano, inoltre, Massimo Cardelli e Antonella Pillozzi per l'apporto tecnico fornito nelle prime fasi del Progetto.

## GLOSSARIO

|                                 |                                                                                                                                  |
|---------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| AAZ                             | Acqua Azzurra, Pachino (Siracusa)                                                                                                |
| ADI                             | <i>acceptable daily intake</i> , o dose giornaliera accettabile                                                                  |
| Analita                         | la specie chimica sotto rilevamento                                                                                              |
| As                              | arsenico                                                                                                                         |
| ASE                             | <i>accelerated solvent extractor</i> (o <i>extraction</i> )                                                                      |
| <i>Background</i>               | la contaminazione di fondo e le sue caratteristiche quali-quantitative                                                           |
| BAF                             | <i>bioaccumulation factor</i> , o fattore di bioaccumulo                                                                         |
| BC                              | Bagnara Calabria                                                                                                                 |
| Bentonica                       | fauna o flora che contrae rapporti con il fondo e/o le superfici solide dei sistemi acquatici                                    |
| <i>Body burden</i>              | livello di contaminanti presenti nell'organismo umano                                                                            |
| <i>Bias</i>                     | errore sistematico o, più in generale, devianza                                                                                  |
| <i>bw</i>                       | <i>body weight</i> , peso corporeo                                                                                               |
| Campione                        | la matrice predisposta per l'analisi                                                                                             |
| Cd                              | cadmio                                                                                                                           |
| CH <sub>3</sub> Hg <sup>+</sup> | forma ionica del MeHg                                                                                                            |
| Cl                              | cloro                                                                                                                            |
| <i>Cleanup</i>                  | procedimento preparativo di purificazione                                                                                        |
| IDPA-CNR                        | Istituto per la Dinamica dei Processi Ambientali, Consiglio Nazionale delle Ricerche                                             |
| Congeneri                       | ogni singolo componente di PCB, PBDE, PCDD, e PCDF                                                                               |
| Cr                              | cromo                                                                                                                            |
| CRIPS                           | Centro di Ricerca Interdipartimentale sulle Tecnologie e l'Igiene degli Allevamenti Intensivi delle Piccole Specie               |
| CRM                             | <i>certified reference material</i> , o materiale di riferimento certificato                                                     |
| Cu                              | rame                                                                                                                             |
| CV%                             | coefficiente di variazione percentuale ( $CV\% = \sigma \times \mu^{-1} \times 100$ )                                            |
| CV-AAS                          | <i>cold vapor atomic absorption spectrometry</i> , o spettrofotometria per assorbimento atomico con la tecnica dei vapori freddi |
| D <sub>10</sub> BDE             | decabromodifenil etere, o PBDE 209                                                                                               |
| D <sub>10</sub> CB              | decaclorobifenile, o PCB 209                                                                                                     |
| 2,4'-DDD                        | 1,1-dicloro-2-(2-clorofenil)-2-(4-clorofenil)-2,2-dicloro-etano, noto anche come <i>o,p'</i> DDD                                 |
| 4,4'-DDD                        | 1,1-bis(4-clorofenil)-2,2-dicloroetano, noto anche come <i>p,p'</i> DDD                                                          |
| 2,4'-DDE                        | 1,1-dicloro-2-(2-clorofenil)-2-(4-clorofenil)-etene, noto anche come <i>o,p'</i> DDE                                             |

|                             |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
|-----------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 4,4'-DDE                    | 1,1-dicloro-2,2- <i>bis</i> (4-clorofenil)-etene, noto anche come <i>p,p'</i> -DDE                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| 2,4'-DDT                    | 1,1,1-tricloro-2-(2-clorofenil)-2-(4-clorofenil)-etano, noto anche come <i>o,p'</i> -DDT                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| 4,4'-DDT                    | 1,1,1-tricloro-2,2- <i>bis</i> (4-clorofenil)-etano, noto anche come <i>p,p'</i> -DDT                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| DHA                         | acido docosaesenoico, C22:6 n3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| <i>Distribution-free</i>    | termine utilizzato per indicare una distribuzione non conforme a una distribuzione normale o log-normale                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| <i>df</i>                   | gradi di libertà                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| dL                          | $L \times 10^{-1}$                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| DL-PCB                      | congeneri dei PCB con azione tossica diossina-simile                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| "Diossine"                  | PCDD e PCDF                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| DPA                         | acido docosapentenoico, C22:5 n3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| <i>Duplicate diet study</i> | approccio utilizzato nei <i>total diet studies</i> per stimare l'esposizione di un gruppo di popolazione a sostanze chimiche tramite la dieta: porzioni di alimenti uguali a quelle consumate nella dieta giornaliera sono omogeneizzate, e il <i>pool</i> analizzato per determinare la concentrazione delle sostanze d'interesse (additivi, contaminanti, nutrienti, etc.) (Kroes et al., 2002) |
| <i>dw</i>                   | <i>dry weight</i> , o matrice secca                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| EC                          | European Commission                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| ECD                         | <i>electron capture detector</i> , o rilevatore a cattura d'elettroni                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| EFSA                        | European Food Safety Authority                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| EGE                         | gambero dell'Ecuador                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| EI                          | <i>electron impact</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| Emivita                     | tempo richiesto per ridurre del 50 % la quantità di una sostanza in un organismo o in una matrice                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| <i>Endpoint</i>             | termine che caratterizza l'effetto tossico in relazione al bersaglio biologico specifico                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| EPA                         | acido eicosapentenoico, C20:5 n3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| EPA                         | persico Africano                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| Epipelagico                 | area del fondale marino compresa tra la superficie e i 50 m di profondità                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| EPV                         | pangasio del Vietnam                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| ESI                         | <i>electrospray ionization</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| EtHg                        | etilmercurio                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| EU                          | European Union                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| <i>F</i>                    | <i>F</i> di Fisher                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |

|                                |                                                                                                                                                             |
|--------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <i>Factor loading</i>          | coefficiente ottenuto nella <i>Factor Analysis</i> che moltiplica le variabili originali nella combinazione lineare per l'ottenimento delle nuove variabili |
| <i>Factor score</i>            | punteggio dei campioni nella <i>Factor Analysis</i> relativo ai <i>loading</i> dei singoli fattori                                                          |
| FAO                            | Food and Agriculture Organization of the United Nations                                                                                                     |
| FG-AAS                         | spettrofotometria per assorbimento atomico con fornetto di grafite                                                                                          |
| FIMS                           | <i>flow injection mercury system</i>                                                                                                                        |
| FPD                            | <i>flame photometric detector</i>                                                                                                                           |
| FR                             | fattore di risposta                                                                                                                                         |
| FRR                            | fattore di risposta relativo                                                                                                                                |
| g                              | grammo                                                                                                                                                      |
| GC                             | gas cromatografia, e terminologia derivata                                                                                                                  |
| GFAAS                          | <i>graphite furnace atomic absorption spectrometry</i>                                                                                                      |
| GPC                            | <i>gel permeation chromatography</i> , o cromatografia mediante gel-permeazione                                                                             |
| GPS                            | <i>global positioning system</i>                                                                                                                            |
| HACCP                          | <i>hazard analysis and critical control points</i>                                                                                                          |
| HCB                            | esaclorobenzene                                                                                                                                             |
| HCH                            | esaclorocicloesano (isomeri <i>alfa</i> , <i>beta</i> , e <i>gamma</i> )                                                                                    |
| HCl                            | acido cloridrico                                                                                                                                            |
| HClO <sub>4</sub>              | acido perclorico                                                                                                                                            |
| HF                             | acido fluoridrico                                                                                                                                           |
| Hg                             | mercurio                                                                                                                                                    |
| HO-PCB                         | policlorobifenili idrossilati                                                                                                                               |
| HNO <sub>3</sub>               | acido nitrico                                                                                                                                               |
| HPLC                           | <i>high performance liquid chromatography</i> , o cromatografia liquida ad alta prestazione                                                                 |
| HR                             | alta risoluzione                                                                                                                                            |
| HSI                            | indice epato-somatico, per esprimere uno stato di maggiore o minore benessere di un pesce allevato                                                          |
| H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> | acido solforico                                                                                                                                             |
| IARC                           | International Agency for Research on Cancer                                                                                                                 |
| <i>Infauna</i>                 | fauna che vive infossata nei sedimenti                                                                                                                      |
| <i>Inshore</i>                 | area marina situata vicina alla costa                                                                                                                       |
| <i>Intake</i>                  | la quantità assunta di un tossico (per via alimentare)                                                                                                      |
| IPA                            | idrocarburi policiclici aromatici                                                                                                                           |
| IRFMN                          | Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri, Milano                                                                                                     |
| ISS                            | Istituto Superiore di Sanità, Roma                                                                                                                          |
| IZSLT                          | Istituto Zooprofilattico Sperimentale di Lazio e della Toscana                                                                                              |

|                            |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
|----------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| $k$                        | indice o fattore di condizione, per esprimere quantitativamente lo stato di maggiore o minore benessere di un pesce                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| $K_{OW}$                   | costante di partizione <i>n</i> -ottanolo-acqua                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| kg                         | $g \times 10^3$                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| kg-bw                      | chilogrammo di peso corporeo                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| km                         | $m \times 10^3$                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| L                          | litro                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| <i>lb</i>                  | <i>lipid basis</i> , o base lipidica                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| LCL                        | <i>lower confidence limit</i> , o limite fiduciale inferiore                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| LD                         | limite di determinazione (LOD o LOQ o valori intermedi)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| LOD                        | limite di rilevamento ( $S \times N^{-1} \approx 2-3$ )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| LOQ                        | limite di quantificazione ( $S \times N^{-1} \approx 4$ )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| <i>Lower bound</i>         | quando nella stima dei valori cumulativi per famiglia chimica, i composti o congeneri non determinabili (<LD) sono inseriti come "LD $\times$ 0"                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| LR                         | <i>low resolution</i> , o bassa risoluzione                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| LT                         | lunghezza totale del pesce (cm)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| m                          | metro                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| MAD                        | <i>median absolute deviation</i> , misura di dispersione statistica considerata uno stimatore più robusto della varianza o della deviazione standard e calcolata secondo quanto riportata da Miller (1993)                                                                                                                                                                                                                                            |
| <i>Market basket study</i> | approccio utilizzato nei <i>total diet studies</i> per stimare l'esposizione di un gruppo di popolazione a sostanze chimiche tramite la dieta: gli alimenti mediamente più diffusi nel gruppo di popolazione osservato sono preparati secondo le normali procedure casalinghe, aggregati in gruppi omogenei, e analizzati per determinare la concentrazione delle sostanze d'interesse (additivi, contaminanti, nutrienti, etc.) (Kroes et al., 2002) |
| MED                        | Medfish, Gaeta (Latina)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| <i>Medium bound</i>        | quando nella stima dei valori cumulativi per famiglia chimica, i composti o congeneri non determinabili (<LD) sono inseriti come "LD $\times$ 0.5"                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| MeHg                       | metilmercurio                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| Mesopelagico               | area del fondale marino compresa tra 200 e 1000 m di profondità                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| mg                         | $g \times 10^{-3}$                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| MID                        | <i>multiple ion detection</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| min                        | minuto, minuti                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| MIUR                       | Ministero dell'Istruzione, dell'Università, e della Ricerca                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |

|                                 |                                                                                                                                                                             |
|---------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| mL                              | $L \times 10^{-3}$                                                                                                                                                          |
| mm                              | $m \times 10^{-3}$                                                                                                                                                          |
| MO                              | Monopoli                                                                                                                                                                    |
| MoE                             | <i>margin of exposure</i> , o margine di esposizione                                                                                                                        |
| MoS                             | <i>margin of safety</i> , o margine di sicurezza                                                                                                                            |
| MRL                             | <i>maximum residue limit</i> , o limite massimo di residuo                                                                                                                  |
| MRM                             | <i>multiple reaction monitoring</i>                                                                                                                                         |
| MS                              | spettrometria di massa, e terminologia derivata                                                                                                                             |
| MTBE                            | metil <i>ter</i> -butiletere                                                                                                                                                |
| $\mu$                           | media                                                                                                                                                                       |
| $\mu g$                         | $g \times 10^{-6}$                                                                                                                                                          |
| $\mu L$                         | $L \times 10^{-6}$                                                                                                                                                          |
| $N$                             | <i>noise</i> , o rumore di fondo ( $N \approx 4 SD_N$ )                                                                                                                     |
| N                               | numero di dati                                                                                                                                                              |
| NaBPh <sub>4</sub>              | tetrafenilborato di sodio                                                                                                                                                   |
| Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> | solfato di sodio                                                                                                                                                            |
| NCI                             | <i>negative chemical ionization</i>                                                                                                                                         |
| nd                              | non determinabile (<LD)                                                                                                                                                     |
| NDL-PCB                         | congeneri dei PCB con azione tossica non-diossina-simile                                                                                                                    |
| Nectobentonico                  | appartenente alla zona nectonica e bentonica                                                                                                                                |
| Nectonico                       | organismo che vive nella colonna d'acqua e per lo più si caratterizza come un predatore                                                                                     |
| Neritico                        | zona costiera sovrastante la platea continentale fino a una profondità massima di 200 m                                                                                     |
| ng                              | $g \times 10^{-9}$                                                                                                                                                          |
| Ni                              | nicel                                                                                                                                                                       |
| <i>Occurrence</i>               | presenza o concentrazione di una sostanza chimica in una matrice biologica                                                                                                  |
| Oceanico                        | relativo a vasta distesa d'acqua salata                                                                                                                                     |
| OCP                             | pesticidi organoclorurati                                                                                                                                                   |
| <i>Offshore</i>                 | fuori costa, aree marine lontane dagli effetti antropogenici costieri                                                                                                       |
| <i>Outlier</i>                  | dato anomalo nella distribuzione d'appartenenza                                                                                                                             |
| P                               | livello di probabilità o di fiducia                                                                                                                                         |
| PAN                             | Panittica, Bisceglie (Bari)                                                                                                                                                 |
| <i>Pattern</i>                  | generalmente il profilo analitico determinato dai contributi congenere- o composto-specifici di un sistema chimico multicomponente (es. PCDD, PCDF, PCB, gruppi di metalli) |
| Pb                              | piombo                                                                                                                                                                      |

|                       |                                                                                                                                 |
|-----------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| PBDD                  | polibromodibenzodiossine (in particolare, in analogia con PCDD, i sette congeneri bromo-sostituiti alle posizioni 2, 3, 7, e 8) |
| PBDE                  | polibromodifenil eteri                                                                                                          |
| PBDF                  | polibromodibenzofurani (in particolare, in analogia con PCDF, i 10 congeneri bromo-sostituiti alle posizioni 2, 3, 7, e 8)      |
| PCB                   | policlorobifenili                                                                                                               |
| PCDD                  | policlorodibenzo- <i>p</i> -diossine                                                                                            |
| PCDF                  | policlorodibenzofurani                                                                                                          |
| PEC                   | <i>predicted environmental concentration</i> , o concentrazione ambientale prevista                                             |
| Pelagica              | specie ittica attiva negli strati superficiali delle acque marine                                                               |
| pg                    | $g \times 10^{-12}$                                                                                                             |
| PFC                   | composti per- o polifluorurati, in particolare PFOA e PFOS                                                                      |
| PFOA                  | acido perfluorooottanoico                                                                                                       |
| PFOS                  | perfluorooottano solfonato                                                                                                      |
| Planctonico           | organismo fluttuante nella colonna d'acqua                                                                                      |
| PLE                   | <i>pressurized liquid extraction</i> (cfr. PSE)                                                                                 |
| PNN                   | <i>probabilistic neural network</i>                                                                                             |
| Pool                  | combinazione di equiquantità di più reperti omogenei fra loro                                                                   |
| POP                   | <i>persistent organic pollutants</i>                                                                                            |
| PP                    | Porto Palo                                                                                                                      |
| p/p                   | peso/peso                                                                                                                       |
| PSE                   | <i>pressurized solvent extraction</i> , o estrazione con solvente pressurizzato                                                 |
| PTDI                  | <i>provisional tolerable daily intake</i> , o dose tollerabile giornaliera provvisoria                                          |
| PTMI                  | <i>provisional tolerable monthly intake</i> , o dose tollerabile mensile provvisoria                                            |
| PTS                   | <i>persistent and toxic substances</i>                                                                                          |
| PTWI                  | <i>provisional tolerable weekly intake</i> , o dose tollerabile settimanale                                                     |
| Pu                    | plutonio                                                                                                                        |
| PUFA                  | acidi grassi polinsaturi                                                                                                        |
| Q                     | percentile (es., Q <sub>.95</sub> )                                                                                             |
| <i>r</i>              | coefficiente di correlazione lineare                                                                                            |
| <i>r</i> <sup>2</sup> | coefficiente di determinazione lineare                                                                                          |
| Range                 | intervallo                                                                                                                      |
| RfD                   | <i>reference dose</i> , o dose di riferimento                                                                                   |

|                            |                                                                                                                                                                                                             |
|----------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| RSD                        | deviazione standard relativa                                                                                                                                                                                |
| Reperto                    | la matrice originale, non ancora trattata per l'analisi                                                                                                                                                     |
| Rilevamento                | determinazione delle concentrazioni degli analiti                                                                                                                                                           |
| $\sigma$                   | deviazione standard                                                                                                                                                                                         |
| $\Sigma_6$ NDL-PCB         | somma delle concentrazioni analitiche dei PCB 28, 52, 101, 138, 153, e 180                                                                                                                                  |
| $\Sigma_{30}$ NDL-PCB      | somma delle concentrazioni analitiche dei PCB 18, 28, 31, 33, 49, 52, 66, 70, 74, 91, 95, 99, 101, 110, 128, 138, 141, 146, 149, 151, 153, 170, 174, 177, 180, 183, 187, 194, 196, 203                      |
| $\Sigma_{13}$ PBDE         | somma delle concentrazioni analitiche dei PBDE 28, 47, 49, 71, 85, 99, 100, 153, 154, 183, 197, 206, 209                                                                                                    |
| s                          | secondo                                                                                                                                                                                                     |
| S                          | (intensità del) segnale                                                                                                                                                                                     |
| SCF                        | Scientific Committee on Food                                                                                                                                                                                |
| SCOOP                      | forma breve per attività di <i>scientific cooperation</i> fra Stati-Membri dell'EU                                                                                                                          |
| SD                         | deviazione standard (sperimentale)                                                                                                                                                                          |
| SE                         | standard esterno                                                                                                                                                                                            |
| SD <sub>N</sub>            | deviazione standard associata al rumore di fondo ( <i>noise</i> )                                                                                                                                           |
| Sessile                    | organismi legati al substrato su cui si trovano adesi                                                                                                                                                       |
| SI                         | standard interno, o tracciante                                                                                                                                                                              |
| SIM                        | <i>single (o selected) ion monitoring</i>                                                                                                                                                                   |
| SV                         | standard volumetrico                                                                                                                                                                                        |
| Sito                       | luogo di prelievo del singolo reperto                                                                                                                                                                       |
| SPE                        | <i>solid phase extraction</i> , o estrazione in fase solida                                                                                                                                                 |
| SRM                        | <i>selected reaction monitoring</i>                                                                                                                                                                         |
| <i>Stress</i>              | stato d'alterazione dell'omeostasi di un sistema biologico                                                                                                                                                  |
| 2,3,7,8-T <sub>4</sub> CDD | il congenere più tossico e più studiato di PCDD, PCDF, e DL-PCB                                                                                                                                             |
| TDE                        | cfr. DDD                                                                                                                                                                                                    |
| TDI                        | <i>tolerable daily intake</i> , o dose tollerabile giornaliera                                                                                                                                              |
| TE                         | equivalenti di tossicità di 2,3,7,8-T <sub>4</sub> CDD                                                                                                                                                      |
| TEF                        | <i>toxicity equivalency factor</i> , o fattore di tossicità equivalente                                                                                                                                     |
| Th                         | torio                                                                                                                                                                                                       |
| <i>Total diet study</i>    | studio per valutare l'esposizione di un gruppo di popolazione a sostanze chimiche tramite la dieta: campioni rappresentativi di alimenti sono raccolti e analizzati per determinare la concentrazione delle |

|                      |                                                                                                                                                                                       |
|----------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                      | sostanze d'interesse (additivi, contaminanti, nutrienti, etc.) (Kroes et al., 2002)                                                                                                   |
| Tracciante           | composto marcato isotopicamente con $^{13}\text{C}$ o $^2\text{H}$ (cfr. SI)                                                                                                          |
| TWI                  | <i>tolerable weekly intake</i> , o dose tollerabile settimanale                                                                                                                       |
| U                    | uranio                                                                                                                                                                                |
| UCL                  | <i>upper confidence limit</i> , o limite fiduciale superiore                                                                                                                          |
| UNEP                 | United Nations Environment Programme                                                                                                                                                  |
| UniCam               | Università di Camerino                                                                                                                                                                |
| <i>Upper bound</i>   | quando nella stima dei valori cumulativi per famiglia chimica, i composti o congeneri non determinabili (<LD) sono inseriti come "LD $\times$ 1"                                      |
| US EPA               | US Environmental Protection Agency                                                                                                                                                    |
| V                    | vanadio                                                                                                                                                                               |
| v/v                  | volume/volume                                                                                                                                                                         |
| W                    | peso del pesce (g)                                                                                                                                                                    |
| WHO                  | Organizzazione Mondiale della Sanità (World Health Organization)                                                                                                                      |
| WHO-TE               | equivalenti di tossicità di 2,3,7,8-T <sub>4</sub> CDD, ovvero quantità totale di PCDD, PCDF, e DL-PCB espressa come quantità "virtuale" di 2,3,7,8-T <sub>4</sub> CDD                |
| WHO-TEF              | sistema della WHO per la conversione in equivalenti di tossicità di 2,3,7,8-T <sub>4</sub> CDD di concentrazioni analitiche di PCDD, PCDF, e DL-PCB (Van den Berg et al., 1998, 2006) |
| W <sub>L</sub>       | peso del fegato del pesce (g)                                                                                                                                                         |
| <i>ww</i>            | <i>wet weight</i> , o base intera (peso fresco o tal quale)                                                                                                                           |
| Zn                   | zinco                                                                                                                                                                                 |
| Zona                 | area geografica sotto presunto impatto uniforme                                                                                                                                       |
| <i>z-Score</i>       | grandezza che esprime in una scala relativa l'accettabilità dei dati ottenuti da diversi laboratori nell'analisi di un medesimo materiale                                             |
| X <sub>MAX</sub>     | valore massimo di un insieme di valori                                                                                                                                                |
| <X>                  | valore medio (sperimentale) di un insieme di valori                                                                                                                                   |
| X <sub>MEDIANA</sub> | valore mediano (Q <sub>.50</sub> ) di un insieme di valori                                                                                                                            |
| X <sub>MIN</sub>     | valore minimo di un insieme di valori                                                                                                                                                 |

## AVVERTENZE

Lo studio descritto in questo Rapporto ha avuto avvio nel tardo 2005 e, laddove applicasi, riflette le esigenze espresse nella normativa dell'epoca, in generale tutt'ora vigente. In particolare, per i contaminanti d'interesse prioritario identificati in PCDD, PCDF, e PCB è stato utilizzato nell'ambito del Rapporto il sistema di conversione analitico-tossicologico identificato come WHO-TEF<sub>97</sub> (Van den Berg et al., 1998) in quanto i limiti e le linee-guida normativi erano espresse con tale sistema. Anche la maggior parte dei dati di letteratura scientifica rifletteva l'impiego del predetto sistema TEF. Tuttavia, nel 2005 la WHO adottava un nuovo sistema di conversione (WHO-TEF<sub>05</sub>) (Van den Berg et al., 2006) che è in via di recepimento nella normativa corrente, la cui pubblicazione è attesa entro la fine dell'anno. A tale riguardo, si è ritenuto indispensabile presentare e discutere in un'Appendice dedicata gli effetti della sostituzione dei TEF e dell'adozione della nuova normativa.

## **INDICE**

|                                                                                                |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| INTRODUZIONE .....                                                                             | 1  |
| Considerazioni generali .....                                                                  | 1  |
| Sintesi del Progetto .....                                                                     | 3  |
| Articolazione del progetto .....                                                               | 4  |
| SEZIONE I — SOSTANZE D'INTERESSE E PARAMETRI<br>DI BENESSERE DEL PRODOTTO ITTICO .....         | 7  |
| Schede chimico-tossicologiche .....                                                            | 7  |
| Schede su benessere e qualità del prodotto ittico .....                                        | 7  |
| SEZIONE II — CAMPIONAMENTO E PRETRATTAMENTO.....                                               | 8  |
| Aree di studio e campionamento .....                                                           | 8  |
| Pretrattamento dei campioni .....                                                              | 10 |
| Parametri di qualità del prodotto ittico.....                                                  | 12 |
| Parametri morfometrici del pesce allevato .....                                                | 12 |
| Indicatori di benessere del pesce allevato .....                                               | 13 |
| SEZIONE III — METODI ANALITICI E STATISTICI.....                                               | 15 |
| Protocolli analitici.....                                                                      | 15 |
| Verifica dei protocolli analitici .....                                                        | 15 |
| Olio di pesce .....                                                                            | 16 |
| Burro .....                                                                                    | 17 |
| Anguilla.....                                                                                  | 18 |
| Latte.....                                                                                     | 19 |
| Approccio statistico all'analisi dei dati.....                                                 | 20 |
| SEZIONE IV — RISULTATI E DISCUSSIONE.....                                                      | 23 |
| Distribuzioni di frequenza dei contaminati chimici .....                                       | 23 |
| Composti organici bromurati.....                                                               | 24 |
| Policlorodibenzodiossine, policlorodibenzofurani,<br>e policlorobifenili diossina-simili ..... | 24 |
| Policlorobifenili non diossina-simili e idrossilati.....                                       | 25 |
| Pesticidi organoclorurati .....                                                                | 26 |
| Composti perfluorurati .....                                                                   | 27 |
| Mercurio totale e mercurio organico.....                                                       | 28 |
| Arsenico.....                                                                                  | 29 |
| Cromo .....                                                                                    | 29 |
| Rame .....                                                                                     | 30 |
| Nichel .....                                                                                   | 31 |
| Piombo .....                                                                                   | 31 |
| Stagno.....                                                                                    | 32 |

|                                                                                                        |                                                                                  |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------|
| Vanadio .....                                                                                          | 32                                                                               |
| Radionuclidi .....                                                                                     | 32                                                                               |
| Qualità del prodotto ittico pescato .....                                                              | 33                                                                               |
| Qualità del prodotto ittico allevato e condizioni di benessere .....                                   | 35                                                                               |
| Qualità del prodotto ittico d'importazione .....                                                       | 36                                                                               |
| Variabilità intersito.....                                                                             | 37                                                                               |
| Elementi di variabilità specie-specifica.....                                                          | 38                                                                               |
| Composizione dei mangimi .....                                                                         | 45                                                                               |
| Composizione chimica .....                                                                             | 45                                                                               |
| Aspetti nutrizionali .....                                                                             | 46                                                                               |
| Sito "Web" .....                                                                                       | 48                                                                               |
| Divulgazione dei risultati .....                                                                       | 50                                                                               |
| SEZIONE V — STIMA DELL'ESPOSIZIONE A SOSTANZE                                                          |                                                                                  |
| DIOSSINA-SIMILI E A METILMERCURIO .....                                                                | 52                                                                               |
| Stima dell' <i>intake</i> di PCDD, PCDF, e DL-PCB (TEQ <sub>TOT</sub> ) .....                          | 53                                                                               |
| Stima dell' <i>intake</i> di metilmercurio .....                                                       | 54                                                                               |
| SEZIONE VI — CONCLUSIONI.....                                                                          | 56                                                                               |
| APPENDICE — MODIFICA DEL SISTEMA DI CONVERSIONE ANALITICO-TOSSICOLOGICO PER PCDD, PCDF, E DL-PCB ..... | 61                                                                               |
| BIBLIOGRAFIA .....                                                                                     | 63                                                                               |
| TABELLE                                                                                                |                                                                                  |
| II.1                                                                                                   | Campioni ottenuti dalla prima campagna di raccolta.                              |
| II.2                                                                                                   | Campioni ottenuti dalla seconda campagna di raccolta.                            |
| II.3                                                                                                   | Campioni ottenuti dalla terza campagna di raccolta.                              |
| III.1                                                                                                  | Composizione acidica dei campioni di olio di pesce.                              |
| IV.1                                                                                                   | Livelli di contaminazione di composti organici bromurati.                        |
| IV.2                                                                                                   | Livelli di contaminazione di PCDD, PCDF, e DL-PCB.                               |
| IV.3                                                                                                   | Livelli di contaminazione di NDL-PCB.                                            |
| IV.4                                                                                                   | Livelli di contaminazione di pesticidi organoclorurati.                          |
| IV.5                                                                                                   | Livelli di contaminazione di composti perfluorurati.                             |
| IV.6                                                                                                   | Livelli di contaminazione di Hg e Hg organico.                                   |
| IV.7                                                                                                   | Livelli di contaminazione di As, Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, Sn, e V                     |
| IV.8                                                                                                   | Livelli di contaminazione di radionuclidi.                                       |
| IV.9                                                                                                   | Caratterizzazione statistica dei gruppi di dati di composti organici bromurati.  |
| IV.10                                                                                                  | Caratterizzazione statistica dei gruppi di dati di PCDD, PCDF, e DL-PCB.         |
| IV.11                                                                                                  | Caratterizzazione statistica dei gruppi di dati di NDL-PCB.                      |
| IV.12                                                                                                  | Caratterizzazione statistica dei gruppi di dati di pesticidi organoclorurati     |
| IV.13                                                                                                  | Caratterizzazione statistica dei gruppi di dati di composti perfluorurati.       |
| IV.14                                                                                                  | Caratterizzazione statistica dei gruppi di dati Hg e Hg organico.                |
| IV.15                                                                                                  | Caratterizzazione statistica dei gruppi di dati As, Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, Sn, e V. |

- IV.16 Parametri biochimici nel prodotto ittico pescato.
- IV.17 Parametri morfometrici nel prodotto ittico pescato.
- IV.18 Parametri biochimici nel prodotto ittico allevato.
- IV.19 Parametri ematochimici nel prodotto ittico allevato.
- IV.20 Parametri morfometrici nel prodotto ittico allevato.
- IV.21 Parametri biochimici nel prodotto ittico d'importazione.
- IV.22 Analisi discriminante per analiti con distribuzione di frequenza log-normale.
- IV.23 Classificazione degli analiti *distribution-free*.
- IV.24 *Factor Analysis, loading*.
- IV.25 *Factor Analysis, score*.
- V.1 Concentrazioni di PCDD+PCDF+DL-PCB (TEQ<sub>TOT</sub>) e di MeHg per la stima dell'esposizione.
- V.2 Consumi di pesce e di prodotti ittici nella popolazione generale Italiana.
- V.3 *Intake* tramite la dieta di PCDD+PCDF+DL-PCB e MeHg.
- A.1 Fattori di tossicità equivalente per PCDD, PCDF, e DL-PCB.
- A.2 Livelli di gestione di rischio per il pesce e i prodotti della pesca.
- A.3 Livelli di PCDD+PCDF, DL-PCB, e PCDD+PCDF+DL-PCB nei reperti di prodotto ittico pescato e allevato calcolati mediante il sistema WHO-TEF<sub>05</sub>.
- A.4 Caratterizzazione statistica dei gruppi di dati di PCDD+PCDF, DL-PCB, PCDD+PCDF+DL-PCB, e dei sei ND-L-PCB "indicatori".

## FIGURE

- II.1 Aree di campionamento.
- III.1 PBDE nei campioni di olio di pesce.
- III.2 PCDD e PCDF nel campione di olio di pesce del Sud America.
- III.3 DL-PCB nel campione di olio di pesce del nord Europa.
- III.4 DL-PCB nel campione di olio di pesce del Sud America.
- III.5 ND-L-PCB nel campione di olio di pesce del nord Europa.
- III.6 ND-L-PCB nel campione di olio di pesce del Sud America.
- III.7 *z-Score* relativi a PBDE nel campione di burro.
- III.8 *z-Score* relativi a PCDD e PCDF nel campione di burro.
- III.9 *z-Score* relativi a DL-PCB nel campione di burro.
- III.10 *z-Score* relativi a ND-L-PCB nel campione di burro.
- III.11 *z-Score* relativi a PCDD e PCDF nel campione di anguilla.
- III.12 *z-Score* relativi a DL-PCB nel campione di anguilla.
- III.13 *z-Score* relativi a ND-L-PCB nel campione di anguilla.
- III.14 Elementi metallici nel campione di latte liofilizzato.
- III.15 *z-Score* relativi a Cd e Pb nel campione di latte liofilizzato.
- IV.1 Distribuzione di frequenza dei risultati relativi ai PBDE.
- IV.2 Distribuzione di frequenza dei risultati relativi a PCDD e PCDF.
- IV.3 Distribuzione di frequenza dei risultati relativi a DL-PCB.
- IV.4 Distribuzione di frequenza dei risultati relativi a PCDD+PCDF+DL-PCB.
- IV.5 Distribuzione di frequenza dei risultati relativi a ND-L-PCB.
- IV.6 Distribuzione di frequenza dei risultati relativi a 2,4'-DDT.
- IV.7 Distribuzione di frequenza dei risultati relativi a 4,4'-DDE.
- IV.8 Distribuzione di frequenza dei risultati relativi a 4,4'-DDD.
- IV.9 Distribuzione di frequenza dei risultati relativi a PFOS.
- IV.10 Distribuzione di frequenza dei risultati relativi a Hg totale.
- IV.11 Distribuzione di frequenza dei risultati relativi a Hg organico.

- IV.12 Correlazione tra le concentrazioni di Hg totale e Hg organico.
- IV.13 Distribuzione di frequenza dei risultati relativi all'As.
- IV.14 Distribuzione di frequenza dei risultati relativi al Cr.
- IV.15 Distribuzione di frequenza dei risultati relativi al Cu.
- IV.16 Distribuzione di frequenza dei risultati relativi al Ni.
- IV.17 Distribuzione di frequenza dei risultati relativi allo Pb.
- IV.18 Distribuzione di frequenza dei risultati relativi al Sn.
- IV.19 Distribuzione di frequenza dei risultati relativi al V.
- IV.20 Tenore lipidico negli esemplari delle specie pescate.
- IV.21 Contenuto di DHA nel prodotto ittico pescato e allevato.
- IV.22 Rapporto tra gli acidi grassi n6 e n3 nel prodotto ittico pescato e allevato.
- IV.23 Variabilità intersito e tra campioni di pesce allevato: PBDE.
- IV.24 Variabilità intersito e tra campioni di pesce allevato: PCDD e PCDF.
- IV.25 Variabilità intersito e tra campioni di pesce allevato: DL-PCB.
- IV.26 Variabilità intersito e tra campioni di pesce allevato: PCDD+PCDF+DL-PCB.
- IV.27 Variabilità intersito e tra campioni di pesce allevato: NDL-PCB.
- IV.28 Variabilità intersito e tra campioni di pesce allevato: 2,4'-DDT.
- IV.29 Variabilità intersito e tra campioni di pesce allevato: 4,4'-DDE.
- IV.30 Variabilità intersito e tra campioni di pesce allevato: 4,4'-DDD.
- IV.31 Variabilità intersito e tra campioni di pesce allevato: PFOS.
- IV.32 Variabilità intersito e tra campioni di pesce allevato: Hg totale.
- IV.33 Variabilità intersito e tra campioni di pesce allevato: Hg organico.
- IV.34 Variabilità intersito e tra campioni di pesce allevato: As.
- IV.35 Variabilità intersito e tra campioni di pesce allevato: Cr.
- IV.36 Variabilità intersito e tra campioni di pesce allevato: Cu.
- IV.37 Variabilità intersito e tra campioni di pesce allevato: Ni.
- IV.38 Variabilità intersito e tra campioni di pesce allevato: Pb.
- IV.39 Variabilità intersito e tra campioni di pesce allevato: Sn.
- IV.40 Variabilità intersito e tra campioni di pesce allevato: V.
- IV.41 Variabilità specie-specifica dei livelli di PBDE riscontrati.
- IV.42 Variabilità specie-specifica dei livelli di PCDD e PCDF riscontrati.
- IV.43 Variabilità specie-specifica dei livelli di DL-PCB riscontrati.
- IV.44 Variabilità specie-specifica dei livelli di PCDD+PCDF+DL-PCB riscontrati.
- IV.45 Variabilità specie-specifica dei livelli di NDL-PCB riscontrati.
- IV.46 *Cluster Analysis* dei dati congenere-specifici di PCDD+PCDF.
- IV.47 *Cluster Analysis* dei dati congenere-specifici di DL-PCB.
- IV.48 Variabilità specie-specifica dei livelli di 2,4'-DDT riscontrati.
- IV.49 Variabilità specie-specifica dei livelli di 4,4'-DDE riscontrati.
- IV.50 Variabilità specie-specifica dei livelli di 4,4'-DDD riscontrati.
- IV.51 Correlazione tra i livelli di NDL-PCB e la lunghezza degli esemplari di pesce.
- IV.52 Correlazione tra i livelli di NDL-PCB e il peso degli esemplari di pesce.
- IV.53 Correlazione tra i livelli di Hg organico e la lunghezza degli esemplari di pesce.
- IV.54 Correlazione tra i livelli di Hg organico e il peso degli esemplari di pesce.
- IV.55 Variabilità specie-specifica dei livelli di PFOS riscontrati.
- IV.56 Variabilità specie-specifica dei livelli di As riscontrati.
- IV.57 Variabilità specie-specifica dei livelli di Cd riscontrati.
- IV.58 Variabilità specie-specifica dei livelli di Cr riscontrati.
- IV.59 Variabilità specie-specifica dei livelli di Cu riscontrati.
- IV.60 Variabilità specie-specifica dei livelli di Hg riscontrati.
- IV.61 Variabilità specie-specifica dei livelli di Hg organico riscontrati.

- IV.62 Variabilità specie-specifica dei livelli di Ni riscontrati.
- IV.63 Variabilità specie-specifica dei livelli di Pb riscontrati.
- IV.64 Variabilità specie-specifica dei livelli di Sn riscontrati.
- IV.65 Variabilità specie-specifica dei livelli di V riscontrati.
- V.1 Principali depositi di cinabro nell'area mediterranea.

## ALLEGATI

### 1. Protocolli analitici (sostanze organiche)

Rilevamento di PFOA e PFOS nel biota acquatico.

Determinazione di acido perfluorooctanoico (PFOA) e di perfluorooctansolfonato (PFOS) in campioni di pesce.

Determinazione di pesticidi organoclorurati nei prodotti ittici.

Rilevamento di polibromodifenil eteri (PBDE), policlorobifenili (PCB), policlorodibenzodiossine (PCDD) e policlorodibenzofurani (PCDF) in campioni di pesce e di molluschi bivalvi.

Rilevamento di policlorobifenili (PCB), policlorodibenzodiossine (PCDD), policlorodibenzofurani (PCDF), polibromodibenzodiossine (PBDD) e polibromodibenzofurani (PBDF) in campioni di omogeneizzato di pesce.

Determinazione di policlorobifenili (PCB) in campioni di pesce e di molluschi bivalvi

Rilevamento di policlorobifenili idrossilati (HO-PCB) in campioni di siero ematico.

### 2. Protocolli analitici (sostanze inorganiche)

Determinazione dell'arsenico nei prodotti ittici.

Determinazione di cadmio, cromo, nichel, piombo, rame, e vanadio nei prodotti ittici.

Determinazione del mercurio totale nei prodotti ittici.

Determinazione del metilmercurio (MeHg) nei prodotti ittici.

### 3. Protocolli analitici (radionuclidi)

Metodica sperimentale per la determinazione di contaminanti metallici e transuranici nei pesci

### 4. Protocolli analitici generali

Transmetilazione e determinazione della composizione acidica.

Determinazione del colesterolo totale.

Parametri biomorfometrici ed ematochimici correlabili con lo stato di benessere dei pesci.

Determinazione dell'umidità, delle ceneri, e dell'azoto.

### 5. Schede chimico-tossicologiche (sostanze organiche)

Aldrin, Dieldrin

Clordano

DDT, DDD, DDE

Endrin

Eptacloro

HCB

HCH

PFOA

PFOS

PBDD, PBDF

PBDE

DL-PCB

NDL-PCB

- PCDD, PCDF
6. Schede chimico-tossicologiche (sostanze inorganiche, in ordine di simbolo)
    - As
    - Cd
    - Cr
    - Cu
    - Ni
    - Pb
    - Sn
    - V
  7. Schede chimico-tossicologiche (radionuclidi)
    - Pu
    - Th
    - U
  8. Schede sulla qualità del prodotto ittico allevato e pescato
    - Branzino (o spigola) e orata
    - Alice, sgombro, e palamita
  9. Scheda sul benessere del pesce allevato
    - Benessere e Qualità del Prodotto Ittico

## INTRODUZIONE

### CONSIDERAZIONI GENERALI

001. Ai fini della messa a punto di metodi, strumenti, e tecnologie per il recupero e la valorizzazione di produzioni tradizionali e tipiche riferite ad aree geografiche sensibili dal punto di vista socio-ambientale, il pescato nazionale e l'acquacoltura *offshore* possono essere riconosciuti quali settori di rilevante importanza, sia per il fattore umano impiegato sia per la stretta relazione tra filiera ittica e qualità ambientale dell'origine geografica. I principali fattori di rischio sono identificabili nel livello di antropizzazione delle coste, nel livello trofico a cui gli organismi d'interesse sono posizionati, e nella qualità di alcune materie prime e mezzi impiegati nel processo produttivo.

002. Appare importante, perciò, qualificare quelle specie ittiche di grande valore socio-economico e ambientale — quali specie eurialine e pesce azzurro — che permettono il recupero e la valorizzazione di attività produttive tradizionali strettamente legate all'area geografica, e che contemporaneamente risultano di rilevante interesse per il consumatore, sia in termini nutrizionali, sia in termini di possibile assunzione (*intake*) di contaminanti ambientali potenzialmente pericolosi.

003. Tra le sostanze d'interesse tossicologico selezionate dai gruppi dei *persistent organic pollutants* (POP) e delle *persistent and toxic substances* (PTS) per questo studio vi sono i polibromodifenil eteri (PBDE), i policlorobifenili (PCB), le policlorodibenzo-*p*-diossine (PCDD), i policlorodibenzofurani (PCDF), i pesticidi clorurati (es. 4,4'-DDE, 4,4'-DDT, HCB), alcuni metalli e organometalli, e alcuni radionuclidi. Anche se hanno caratteristiche molto diverse tra loro, tutte queste sostanze sono caratterizzate da notevole persistenza ambientale e sono oggetto di accordi internazionali che intendono ridurre o bandirne l'emissione nell'ambiente (es. Stockholm Convention on POPs, 2001). Una volta in acqua, esse possono essere veicolate dai mangimi/integratori minerali o, associandosi alla frazione organica del particolato sospeso, si accumulano con esso nei sedimenti del fondale. Attraverso l'interazione con gli organismi acquatici che vivono a contatto con il particolato sospeso e con il sedimento del fondale, le sostanze predette si accumulano nei vari livelli delle reti trofiche di cui fanno parte anche organismi che rientrano nell'alimentazione umana (EFSA, 2005a).

004. Pertanto, lo studio previsto dal Progetto si è basato sulla valutazione del rischio geografico e della valorizzazione della filiera attraverso l'identificazione e il

monitoraggio di parametri di contaminazione e di valore nutrizionale e di benessere, nei punti critici (HACCP). Gli strumenti di valorizzazione produttiva e di mercato sono stati posti in essere sinergicamente con alcuni operatori di filiera, quali FEDERPESCA e COOP Italia. Attraverso lo studio dei contaminanti ambientali sopra descritti nel prodotto ittico nazionale — georeferenziato per macro-aree — il Progetto ha consentito, quindi, la definizione del suo livello sanitario, nutrizionale, e merceologico, e contestualmente di conferire un valore aggiunto sanitario e socio-ambientale alla filiera medesima, in particolare quando comparata con analoghe produzioni estere (es. quelle dei mari del Nord e di paesi extra-Comunitari).

005. In tale contesto, lo studio di alcuni parametri di benessere animale, strettamente correlabili con la zona geografica di provenienza e la qualità sanitaria e merceologica del pesce, ha permesso un'ulteriore definizione della georeferenziazione e della tipicità della produzione. Per la caratterizzazione e valorizzazione del prodotto ittico nazionale, sono stati presi in considerazione prodotti ittici provenienti da specie posizionate a diversi livelli trofici, schematicamente individuati come "basso", "medio", e "alto".

006. La spigola rientra di diritto tra le specie ittiche marine di maggior valore commerciale, considerando che oltre il 95 % del prodotto commercializzato in Europa viene allevato nel mare Mediterraneo mediante pratiche di acquacoltura intensiva in gabbie *offshore* e *inshore*, e in bacini a terra utilizzando mangimi bilanciati contenenti farine di pesce ad alto tenore proteico. Nei confronti di questa specie — e di altre specie d'elevato interesse commerciale — e degli alimenti somministrati, oltre i rilievi analitici precedentemente prospettati, sono state effettuate le seguenti indagini:

- composizione chimica (mangimi e pesci)
- caratteristiche della frazione acidica (mangimi e pesci)
- parametri biometrici e morfometrici (pesci).

007. I dati ottenuti sono stati messi a confronto con analoghi rilievi condotti su equivalenti esemplari selvatici o allevati in condizioni estensive senza alcun apporto di mangimi bilanciati da parte dell'uomo. Per quanto attiene il benessere dei pesci allevati sono stati considerati le caratteristiche dell'ambiente di allevamento, le quantità di biomassa per unità volumetrica ("densità unitaria"), la qualità, la quantità, e la modalità di somministrazione della razione giornaliera, e i principali parametri ematici indicatori di *stress* cronico, nonché le condizioni di benessere evidenziate mediante indagini ematochimiche condotte in tutte le fasi dell'allevamento.

## SINTESI DEL PROGETTO

008. Seguendo i criteri riguardanti l'analisi della qualità e del rischio chimico (Paustenbach, 2002), il Progetto è stato articolato come segue.

### *Identificazione*

- Definizione del rischio alimentare e ambientale dovuto alla presenza di contaminanti ambientali prioritari già noti (es. PBDE, PCB, PCDD, PCDF), altri organoalogenati persistenti, mercurio e metilmercurio, alcuni metalli pesanti e radionuclidi, ed eventuali altre sostanze di potenziale interesse (ad es., policlorobifenili idrossilati (HO-PCB))
- identificazione delle sorgenti (attuali e potenziali) di contaminazione
- identificazione dei parametri di benessere e di qualità del prodotto ittico marino allevato e nel pescato, in particolare in relazione alla presenza di indicatori di *stress* cronico correlabili con l'esposizione prolungata ai contaminanti d'interesse e caratterizzazione morfometrica del biota
- scelta delle aree geografiche ritenute interessanti quali esempi d'alta, media, e bassa esposizione lungo le coste italiane e disegno campionario.

### *Tipizzazione e valutazione*

- Messa a punto e intercalibrazione degli strumenti analitici per la valutazione del fenomeno, ivi inclusi i protocolli di campionamento
- prelievo delle matrici selezionate nella fase preliminare, mediante operatori specializzati nelle aree identificate nella fase precedente
- analisi delle matrici campionate mediante tecniche molto specifiche — es. gas cromatografia ad alta risoluzione (HRGC) in combinazione con spettrometria di massa ad alta o bassa risoluzione (HR- o LRMS), spettrometria d'assorbimento atomico (ETAAS, CVAAS), etc.
- confronto con i profili di contaminazione ottenuti da analisi sul prodotto d'importazione o disponibili dalla letteratura
- analisi delle matrici campionate relativamente a parametri di benessere
- confronto con i dati di benessere del prodotto ittico ottenuti da analisi su prodotti d'importazione o disponibili dalla letteratura
- valutazione dei dati e delle sorgenti di contaminazione
- valutazione delle caratteristiche qualitative delle carni dei pesci allevati in raffronto con quelle di soggetti selvatici.

### *Gestione tramite la definizione degli opportuni indicatori di qualità*

- Costruzione di scenari d'esposizione qualitativi
- eventuale costruzione di scale di valutazione della qualità in base al consumo di pesce
- correlazione dei dati di contaminazione con la valutazione del benessere e della qualità del prodotto ittico

- correlazioni tra benessere e parametri zootecnici (dieta e densità unitaria di allevamento) e dati morfometrici
- verifica della possibilità di caratterizzare la tracciabilità del prodotto ittico in base ai livelli e ai profili di contaminazione
- preparazione di una banca dati aggiornabile.

#### *Comunicazione*

- Corsi di aggiornamento sulla normativa e sui metodi per gli operatori di settore
- protocolli operativi per gli operatori di settore al fine di garantire elevata affidabilità negli accertamenti analitici
- costruzione di un sito "web" aggiornabile con le informazioni relative alla valorizzazione georeferenziata del prodotto e del processo.

## **ARTICOLAZIONE DEL PROGETTO**

009. Per la sua esecuzione, il Progetto è suddiviso in sei linee di ricerca — ciascuna articolata in diverse attività — aventi un diverso sviluppo temporale nell'ambito della durata del Progetto stesso.

010. Linea 1. "Caratterizzazione tossicologica dei contaminanti ambientali oggetto di studio: Identificazione dei possibili fattori geografici per la loro trasmissione dall'ambiente e dal mangime al prodotto ittico e loro influenza sul benessere e qualità del pescato"

Attività 1 Analisi delle schede tossicologiche e profilo d'uso dei contaminanti oggetto di studio in attività antropiche. Individuazione delle possibili fonti di contaminazione e predisposizione di scale di rischio.

Attività 2 Identificazione dei parametri di benessere e qualità del pescato più suscettibili d'essere influenzati dalla presenza di contaminanti ambientali (indicatori di *stress* cronico). Esecuzione di rilievi relativi alla qualità delle carni di soggetti selvatici allevati. Monitoraggio dei parametri morfometrici.

011. Linea 2. "Definizione delle aree di studio per la georeferenziazione, la tempistica, e le metodologie di campionamento"

Attività 1 Scelta delle aree di campionamento in base all'individuazione di scenari d'esposizione differenti.

Attività 2 Definizione delle modalità di campionamento da vasche *offshore* in base ai cicli di accrescimento.

Attività 3 Definizione delle modalità di campionamento del prodotto ittico in base ai calendari di fermo biologico.

Attività 4 Definizione delle modalità di preparazione dei campioni per gli accertamenti di laboratorio.

Attività 5 Modalità di conservazione e spedizione dei campioni ai laboratori.

012. Linea 3. "Messa a punto dei protocolli atti a misurare la presenza e l'entità del fenomeno contaminazione e i suoi possibili riflessi sul benessere degli animali e la qualità del prodotto ittico"

Attività 1 Definizione delle strategie analitiche per "diossine" (PCDD e PCDF), metaboliti dei PCB, perfluororganici, plutonio, torio, uranio.

Attività 2 Definizione delle strategie analitiche per PBDD, PBDE, e PBDF.

Attività 3 Definizione delle strategie analitiche per i PCB ad azione diossina-simile, e per i PCB non-diossina-simili.

Attività 4 Definizione di strategie analitiche per pesticidi clorurati, metilmercurio, e altri metalli.

Attività 5 Definizione dei parametri di benessere e qualità del pescato (ematochimica), inclusa la qualità delle carni e dei mangimi (componente lipidica).

Attività 6 Supervisione dei protocolli analitici.

013. Linea 4 "Misurazione della contaminazione e dei parametri di benessere e qualità del prodotto ittico nelle aree di studio e valutazione del dato analitico per confronto con quello riportato in letteratura e ottenuto dall'analisi del prodotto di importazione"

Attività 1 Misurazioni sui campioni di diossine (PCDD+PCDF), perfluororganici, metaboliti dei PCB, uranio, torio, plutonio.

Attività 2 Misurazioni sui campioni di PBDD, PBDF, e PBDE.

Attività 3 Misurazioni di PCB ad azione diossina-simile, e di PCB non-diossina simili.

Attività 4 Misurazioni sui campioni di pesticidi clorurati, mercurio e metilmercurio, e altri metalli.

Attività 5 Misurazione sui campioni dei parametri di benessere e qualità del pescato mediante misure ematochimiche.

Attività 6 Controllo di qualità delle attività analitiche

014. Linea 5 "Disseminazione dei risultati e trasferimento della conoscenza agli operatori di settore: definizione di specifici corsi di formazione e capitoli di produzione, ivi inclusi i requisiti del personale. Proposte per la corretta gestione dei parametri e indicatori legati al valore aggiunto sanitario e commerciale, ai fini della qualificazione del processo, prodotto."

Attività 1 Inquadramento della problematica ambientale alla luce del rischio tossicologico e della normativa italiana ed europea in campo alimentare e ambientale.

Attività 2 Raccolta della letteratura scientifica rilevante e in forma di rapporti scientifici da divulgare.

Attività 3 Informazione e formazione degli operatori di settore, finalizzato alla codifica di procedure operative standard e buone pratiche di produzione. Proposte per il controllo e la gestione dei punti critici di contaminazione.

015. Linea 6. "Gestione del progetto"

Attività 1 Costituzione di un sito "web", con gli opportuni collegamenti per la consultazione di informazioni in tempo reale da parte dell'utenza.

## **SEZIONE I — SOSTANZE D'INTERESSE E PARAMETRI DI BENESSERE DEL PRODOTTO ITTICO**

### **SCHEDE CHIMICO-TOSSICOLOGICHE**

016. Le caratteristiche delle sostanze d'interesse, come elencate negli Allegati 1–3 dell'indice generale, sono schematicamente riportate nelle schede che costituiscono gli Allegati 5 (contaminanti organici), 6 (elementi metallici e derivati metallorganici), e 7 (radionuclidi). Per la compilazione di tali schede sono state prese in considerazione le rassegne scientifiche più significative per le finalità del progetto e la letteratura scientifica più recente pubblicata da istituzioni internazionali.

017. Ogni scheda riporta per ciascuna delle sostanze d'interesse:

- generalità e destino ambientale
- livelli nei prodotti ittici ed esposizione
- effetti sull'essere umano.

### **SCHEDE SU BENESSERE E QUALITÀ DEL PRODOTTO ITTICO**

018. Per quanto non previsto dal Progetto nella sua approvata forma esecutiva, sono state comunque formulate schede sulla qualità del prodotto ittico — anche chiamate in breve “merceologiche” (Allegato 8) — relative a cinque importanti specie di pesci: branzino (o spigola), orata, alice, sgombero, e palamita, e sul benessere del pesce in allevamento. L'obiettivo è quello di descrivere, in base a dati di letteratura, i parametri di benessere animali più facilmente correlabili e misurabili con i profili di bioaccumulo dei contaminanti ambientali investigati.

019. Sulla base dei dati di letteratura attualmente disponibili, è stata messa a punto una scheda (Allegato 9) che illustra i principali parametri da misurare e i relativi valori di riferimento, ai fini della valutazione del benessere nelle specie allevate.

## SEZIONE II — CAMPIONAMENTO E PRETRATTAMENTO

### AREE DI STUDIO E CAMPIONAMENTO

020. Circa le aree geografiche di pesca più idonee a caratterizzare il prodotto ittico nazionale dal punto di vista delle caratteristiche nutrizionali delle carni — con particolare riferimento alla frazione lipidica e acidica e al grado d'esposizione a microcontaminanti ambientali — sono state prescelte le tre aree seguenti (Figura II.1):

- mare Adriatico, settore meridionale a sud di Bari (Monopoli)
- mare Tirreno, al largo di Bagnara Calabra
- mare Ionio, al largo di Porto Palo.

In relazione ai siti di campionamento ivi collocati, sono state individuate le specie oggetto d'indagine sulla base dei seguenti criteri:

- livelli occupati nella catena trofica
- possibilità di ottenere con continuità il prodotto selvatico da parte dei pescatori di professione.

021. Relativamente a quest'ultimo aspetto si è reso necessario coinvolgere FEDERPESCA che ha garantito le forniture delle diverse specie selezionate di organismi acquatici selvatici, la georeferenziazione delle aree prescelte, i quantitativi per specie, e la calendarizzazione dei prelievi.

022. Per le specie ittiche allevate è stata coinvolta COOP Italia che ha garantito la fornitura di congrue quantità di orate (*Sparus aurata* L.) e branzini (*Dicentrarchus labrax* L.) attingendo dagli allevamenti in gabbie che hanno sottoscritto i capitoli di produzione con COOP Italia stessa. Gli impianti prescelti per lo svolgimento dello studio sono i seguenti:

- Acqua Azzurra, Pachino (Siracusa), allevamento *offshore*
- Medfish, Gaeta (Latina), allevamento *inshore*
- Panittica Pugliese, Bisceglie (Bari), allevamento *offshore*

In merito agli impianti di acquacoltura, l'azienda Spezzina Itticoltura che era stata prescelta nel corso del I anno per lo svolgimento dello studio, è stata sostituita con Medfish (Gaeta, prov. Latina) in quanto il modulo di gabbie galleggianti *offshore* non era ancora entrato in funzione. Presso i suddetti impianti di acquacoltura sono stati effettuati prelievi ematici impiegati per le analisi

ematochimiche che hanno consentito di stabilire le condizioni di benessere delle specie allevate.

023. Lo studio ha previsto il campionamento del prodotto ittico sia durante il periodo estivo che durante il periodo invernale. Complessivamente sono state effettuate tre campagne durante le quali sono state raccolte le specie selvatiche e allevate elencate nelle Tabelle II.1 (prima campagna), II.2 (seconda campagna), e II.3 (terza campagna). Per gli esemplari selvatici, le catture sono avvenute mediante l'impiego di differenti tipologie di attrezzi: reti a strascico, tremagli di fondo, e reti da circuizione operanti in superficie e a mezz'acqua. In particolare, le catture nelle tre aree geografiche hanno avuto luogo con le seguenti modalità:

- mare Adriatico (Monopoli): le specie pelagiche sono state catturate a partire da Monopoli a distanza di 10 miglia fino a 30–40 miglia dalla costa, direzione Croazia. Le specie bentoniche sono state catturate a strascico nell'area compresa tra Brindisi e Otranto a partire da 4 miglia dalla costa sino a 18 miglia in direzione dell'Albania
- mare Tirreno (Bagnara): le catture con reti da circuizione sono avvenute ad una distanza di 15 miglia dalla costa di fronte a Bagnara per quanto riguarda l'alice mentre le altre due specie pelagiche sono state catturate davanti a Roccella Jonica a 15 miglia dalla costa. Le specie bentoniche catturate con reti a strascico provenienti dal tratto compreso tra Bagnara e Vibo Valentia dove le strascicate sono avvenute a 5–6 miglia dalla costa
- mare Ionio (Porto Palo): le pescate con reti da circuizione per le catture dei piccoli e grandi pelagici sono avvenute a 36° 23' 1.35" latitudine Nord e 14° 54' 6.25" longitudine Est. Le specie catturate con reti a strascico provenivano dall'area con le seguenti coordinate 36° 36' 2.15" latitudine nord, 14° 59' 23.2" longitudine est.

024. Al fine di confrontare i livelli di contaminazione e i parametri di benessere e qualità del prodotto ittico nelle aree di studio con quelli ottenuti dall'analisi del prodotto d'importazione, sono state selezionate alcune tipologie commerciali maggiormente rappresentative delle provenienze dall'America, dall'Africa, e dall'Asia, paesi che stanno progressivamente conquistando fette sempre più importanti nel mercato interno. Come riportato in dettaglio nella Tabella II.3, tra i prodotti d'importazione sono stati selezionati il gambero dall'Equador, (EGE, *Penaeus vannamei*), il persico africano dal Lago Vittoria (EPA, *Lates niloticus*), e il pangasio dal Vietnam (EPV, *Pangasius hypophthalmus*).

025. In merito alla valutazione dei livelli di concentrazione di HO-PCB nel siero di pesce — attività ritenuta d'interesse per le finalità del Progetto (cfr. 008) — il prelievo del sangue contestualmente alla cattura degli esemplari selvatici è

risultato di fatto di difficile praticabilità. In considerazione di ciò, il campionamento del sangue è stato limitato al solo pesce allevato.

## PRETRATTAMENTO DEI CAMPIONI

026. Il prodotto ittico è stato acquisito dall'unità operativa CRIPS che ha prelevato direttamente da pescatori e allevatori gli esemplari pescati e allevati inviando proprio personale tecnico in ciascun sito. Detto personale ha provveduto al prelievo e, ove necessario, al parziale trattamento del materiale ittico sul posto, nonché al trasporto, con le modalità più adeguate, ai propri laboratori. Qui è stata completata la preparazione (pretrattamento) dei campioni sino a ottenere gli omogeneizzati che sono stati inoltrati alle unità operative coinvolte nel Progetto. Alla definizione delle modalità sopra riportate è stata dedicata particolare attenzione affinché venissero poste in atto scrupolose misure volte a evitare la degradazione e/o la contaminazione dei campioni.

027. Per la prima campagna di campionamento, la metodologia scelta per la preparazione dei campioni ha previsto che per i pesci interi di dimensioni superiori ai 100–150 g il tessuto muscolare fosse prelevato ponendo l'esemplare prima su di un fianco e poi sull'altro al fine di rimuovere la pelle a partire dalla linea mediana dorsale, procedendo verso la zona ventrale. Qualora il pannicolo adiposo sottocutaneo non fosse completamente rimosso asportando la pelle, si procedeva al suo totale allontanamento. Se nel corso dell'operazione parte del deposito lipidico si era eccessivamente ammorbidito o era andato incontro a fusione, si procedeva alla sua rimozione utilizzando carta assorbente o fazzoletti di carta. Mediante bisturi e forbici si effettuava il prelievo del filetto dal muscolo *longissimus dorsi* situato lateralmente nell'area compresa tra la linea laterale e il vertice del dorso quando la taglia del soggetto lo consentiva (il prelievo deve essere eseguito senza giungere alla cavità addominale), o dell'intera massa muscolare se i pesci erano di taglia modesta. Nel caso del gambero mediterraneo è stato eliminato l'esoscheletro. Alcuni ulteriori dettagli sono contenuti nelle Tabelle II.1–3. Nel caso di esemplari di piccole dimensioni — es. Clupeidi e naselli prelevati a Porto Palo (Pachino) — si è operato sull'intero organismo privato di testa e coda.

028. Rispetto a quanto già effettuato (cfr. 027) in relazione alla metodologia di preparazione dei campioni, nella seconda e terza campagna di campionamento si è proceduto a verificare la fattibilità della metodologia scelta per il pretrattamento del prodotto ittico per le analisi di metalli pesanti e per gli accertamenti relativi a PCDD, PCDF, e DL-PCB, con riferimento alle normative Europee (Regolamento 1883/06/CE; Regolamento 629/08/CE). In particolare, si è potuto rilevare come le prescrizioni riguardanti l'analisi di PCDD, PCDF, e DL-PCB che prevedono la rimozione della pelle del pesce e il recupero del sottocute, quale pretrattamento

del campione da analizzare, sono di difficile praticabilità per le specie pescate di piccola taglia proprie del mare Mediterraneo (acciuga, triglia, nasello), e di fatto possono esporre il campione stesso a una contaminazione esterna. D'altra parte, i criteri di pretrattamento del campione per l'analisi di metalli pesanti prescrivono il prelievo della sola parte muscolare.

029. Pertanto, sulla base di quanto sopra detto e alla luce della pertinente valutazione dei dati di contaminazione in chiave di esposizione alimentare, nella seconda e terza campagna di campionamento si è convenuto di fare riferimento alla porzione edibile. Tale orientamento ha determinato la necessità di ricampionare alcune specie ittiche, quali alice, triglia da fango, e nasello, che nel corso della prima campagna di pesca avevano subito un pretrattamento tale da non garantire l'esclusione del pacchetto viscerale (alice, triglia, nasello) o della pelle (triglia e nasello) dall'omogeneizzato predisposto per l'analisi. Questo avrebbe potuto comportare una sovrastima della contaminazione delle sostanze d'interesse, tenendo presente che ai fini di sanità pubblica, i livelli di contaminazione da PCDD, PCDF, e DL-PCB nella matrice ittica sono espressi su base fresca (a differenza di quanto avviene nelle altre derrate di origine animale, quali carne, latte e uova, in cui la contaminazione è riportata su base grassa). Il campionamento delle tre specie sopra citate è quindi stato ripetuto nelle medesime zone georeferenziate della prima campagna di pesca, e i pesci sono stati pretrattati in modo da ottenere il filetto, comprensivo della pelle e del sottocute, con esclusione della testa, della coda e del pacchetto viscerale.

030. Per ciò che concerne i HO-PCB nel siero del pesce allevato (cfr. 025), poiché la quantità di sangue prelevabile dal singolo esemplare non era sufficiente per ottenere un volume di siero utile per l'analisi, contributi equponderali di siero provenienti da esemplari della stessa specie sono stati omogeneizzati per costituire campioni *pool*.

## **PARAMETRI DI QUALITÀ DEL PRODOTTO ITTICO**

031. In relazione ai parametri di benessere e qualità del prodotto ittico pescato e allevato, sono stati indagati gli aspetti di seguito elencati:

- composizione centesimale
- approfondimento analitico relativo alla frazione lipidica
- determinazione della frazione acidica satura, monoinsatura, e polinsatura
- caratterizzazione degli acidi grassi della serie omega-3
- determinazione del rapporto omega-6/omega-3.

Per quanto riguarda la composizione centesimale, la percentuale di umidità è stata determinata facendo riferimento alla metodica AOAC (1990). Le proteine sono state determinate adottando il procedimento Kjeldahl che consente di determinare l'azoto comprendente la frazione proteica, aminica, amidica, ammoniacale, e ureica. Il procedimento si basa sulla mineralizzazione dell'azoto mediante trattamento a caldo con acido solforico concentrato e successiva distillazione dell'azoto ammoniacale con raccolta su acido borico. L'analisi viene effettuata con il metodo Kjeldahl semiautomatizzato (AOAC, 1990). Le ceneri sono state ottenute dopo incenerimento del campione in muffola a 525 °C applicando le condizioni riportate nel metodo AOAC (1990). Relativamente alla frazione lipidica, i grassi totali sono stati misurati facendo riferimento alla procedura con cloroformio/metanolo descritta da Folch et al. (1957). Per la caratterizzazione degli acidi grassi, si è fatto riferimento al metodo di Christopherson & Glass (1969) che prevede la transmetilazione degli acidi grassi a partire dalla preparazione di una miscela KOH 2N metanolica. La separazione degli acidi grassi è stata condotta impiegando un gascromatografo provvisto di colonna capillare (Supelco SP TM 2340; 30 m x 0.32 mm). L'identificazione dei picchi dei singoli acidi grassi è avvenuta comparando i tempi di ritenzione con miscele standard (37 FAME Mix e C22:5 n-3, Supelco).

## **PARAMETRI MORFOMETRICI DEL PESCE ALLEVATO**

032. Sugli esemplari appartenenti alle specie orata e branzino sono state effettuate rilevazioni biomorfometriche (Geri et al., 1995; Cibert et al., 1999) riguardanti i parametri di seguito elencati (Allegato 4):

- peso corporeo, W
- lunghezza totale, LT
- altezza massima del pesce
- lunghezza della testa
- lunghezza massima dell'opercolo

- larghezza massima dell'opercolo.

033. Sono stati inoltre separati i principali costituenti corporei quali visceri, grasso periviscerale, fegato, gonadi, e testa. I dati ottenuti da questo tipo d'indagine hanno fornito informazioni sullo stato nutrizionale dei pesci, sullo stato sanitario, sulla morfologia, e sulle variazioni delle singole componenti in grado d'influenzare la resa in parte edule. Dalle misurazioni rilevate, sui branzini e orate provenienti dagli allevamenti che forniscono COOP Italia, si è proceduto a calcolare i seguenti indici (Allegato 4):

- incidenza percentuale dei depositi lipidici periviscerali sul peso totale
- incidenza percentuale della massa viscerale sul peso totale
- indice o fattore di condizione  $k$ , dato dal rapporto  $W \times 100 \times LT^{-3}$ , dove  $W$  è il peso del pesce (g) ed  $LT$  la sua lunghezza (cm). Valori di  $k$  che si discostino da quelli tipici della specie d'appartenenza possono indicare malnutrizione o presenza di fattori ambientali e sanitari che limitano l'accrescimento (Klemm et al., 1993)
- indice epato-somatico HSI, dato dal rapporto tra il peso del fegato, in g  $\times$  100, e il peso corporeo (g). Questo indice permette d'avere indicazioni sullo stato di salute del pesce (Montero et al., 1999; Paustenbach, 2002)
- indice craniale, dato dal rapporto tra la lunghezza della testa (cm) e la lunghezza totale del corpo (cm)
- primo profilo relativo, espresso dal rapporto tra la massima altezza, in cm  $\times$  100, e la lunghezza totale (cm).

034. È stata inoltre rilevata l'incidenza delle malformazioni scheletriche calcolandola su base percentuale degli esemplari pervenuti. Su tali pesci, infatti, sono state individuate tutte le deformazioni dell'apparato scheletrico visibili a occhio nudo (deformazioni della colonna vertebrale, delle ossa del capo, mancanza totale o parziale dell'opercolo branchiale).

## INDICATORI DI BENESSERE DEL PESCE ALLEVATO

035. I rilievi sono stati condotti su pesci provenienti dagli impianti di acquacoltura in gabbie *offshore*. I risultati sono stati poi posti a confronto con quelli ottenuti da analisi condotte su esemplari della stessa specie e dimensione, allevati con tecniche estensive (vallicoltura) e pertanto non sottoposti agli stimoli negativi tipici dell'allevamento intensivo. Tale confronto aveva lo scopo di verificare se i parametri presi in esame possano essere considerati affidabili indicatori di condizioni di benessere (Kestin, 1994; Korshon et al., 1994; Montero et al., 1999; Huntingford, 2002; Melotti et al., 2004; Roncarati et al., 2006).

036. Le operazioni di campionamento sono state eseguite direttamente in impianto, alla stessa ora del giorno al fine di evitare possibili variazioni circadiane (Benneman, 1977).

037. I campioni di sangue, prelevati mediante puntura cardiaca da soggetti scelti in modo casuale e anestetizzati (20 pesci/gruppo), sono stati immediatamente sottoposti a centrifugazione per 20 minuti a 3000 rpm. Il plasma ottenuto è stato immediatamente congelato e successivamente analizzato mediante apparecchiatura spettrofotometrica (BPC, Pronto) per determinare i seguenti parametri (Bergmeyer, 1974) (Allegato 4):

- glucosio (metodo GOD-PAP Trinder)
- colesterolo totale (metodo CHOD-POD Trinder)
- trigliceridi (metodo GPO colorimetrico)
- proteine totali (metodo colorimetrico al biureto)
- LDH (lattato deidrogenasi) (metodo cinetico UV, ottimizzato SCE)
- AST (transaminasi glutammico-ossalacetica) (metodo per il dosaggio dell'aspartato-amminotransferasi)
- metodo cinetico UV, ottimizzato IFCC)
- ALT (transaminasi glutammico-piruvica) (metodo per il dosaggio dell'alanina-amminotransferasi; metodo cinetico UV, ottimizzato IFCC)
- ALP (fosfatasi alcalina) (metodo DEA cinetico)
- CK (creatin chinasi) (metodo cinetico UV) (Bergmeyer, 1974).

038. I dati, ottenuti da un medesimo campionamento, sono stati sottoposti a elaborazione statistica con analisi della varianza (ANOVA) secondo il modello monofattoriale. Le differenze tra le medie sono state valutate con il *test* SNK (Student-Newman-Keuls).

## **SEZIONE III — METODI ANALITICI E STATISTICI**

### **PROTOCOLLI ANALITICI**

039. I metodi analitici utilizzati per la determinazione delle sostanze d'interesse sono descritti nell'Allegato 1 (contaminanti organici), nell'Allegato 2 (elementi metallici), e nell'Allegato 3 (radionuclidi).

040. L'Allegato 4 contiene i metodi riguardanti la determinazione dei lipidi totali, della composizione acidica, del colesterolo totale, dell'umidità, delle ceneri, e dell'azoto, e un saggio per valutare i parametri in grado d'influencare la resa in parte edule del prodotto ittico.

### **VERIFICA DEI PROTOCOLLI ANALITICI**

041. Al fine di verificare l'efficacia e l'affidabilità delle procedure analitiche utilizzate, prima dell'analisi dei campioni reali ciascuna unità operativa ha ricevuto una o più aliquote di materiali di composizione omogenea con l'obiettivo di procedere al dosaggio dei contaminanti d'interesse per il Progetto. Si precisa che, sebbene ogni unità operativa avesse una propria assegnazione di analiti, l'analisi di tali materiali aveva lo scopo di consentire l'armonizzazione e la comparabilità dei dati forniti dai singoli laboratori, e di assicurare un'elevata affidabilità nell'analisi dei campioni reali.

042. In particolare, alle unità operative incaricate della determinazione dei contaminanti organici sono state distribuiti i seguenti materiali:

- due campioni di olio di pesce provenienti rispettivamente dal nord Europa e dal Sud America
- un campione di burro oggetto di un circuito interlaboratorio internazionale
- due campioni identici di anguilla omogeneizzata oggetto di un circuito interlaboratorio internazionale.

043. L'unità operativa incaricata di eseguire la determinazione degli elementi metallici ha ricevuto sei campioni di latte vaccino liofilizzato caratterizzato da alcuni "valori di consenso".

044. L'unità operativa incaricata di eseguire la determinazione della composizione lipidica, ha ricevuto i campioni di olio di pesce, precedentemente citati (cfr. 040).

045. Di seguito vengono illustrati i risultati ottenuti nell'analisi delle matrici sopra descritte. Si fa presente che ai fini della valutazione e della rappresentazione grafica di tali risultati, i dati espressi come "non determinabili" (<LD o nd) non sono stati presi in considerazione.

## OLIO DI PESCE

046. L'attività analitica ha previsto la determinazione dei contaminanti organici PBDE, PCDD, PCDF, e PCB in due campioni d'olio di pesce provenienti rispettivamente dal nord Europa e dal Sud America. Ciascuna unità operativa ha ricevuto, di ogni campione propriamente omogeneizzato, due aliquote identificate rispettivamente con le sigle NE e LZ (olio di pesce del nord Europa), e SA e TB (olio di pesce del Sud America). I risultati degli accertamenti predetti sono riportati nelle Figure III.1–6. Inoltre, l'unità operativa CRIPS ha condotto, sulla stessa tipologia di campioni, la determinazione della componente acidica i cui risultati sono riassunti nella Tabella III.1.

047. La Figura III.1 mostra i risultati ottenuti nella determinazione dei 13 PBDE nei due campioni di olio di pesce dall'ISS, unità operativa preposta nell'ambito del Progetto alla quantificazione di questa classe di sostanze. Come è evidente, la comparabilità dei dati è buona per entrambi i campioni d'olio in esame.

048. Per ciò che concerne PCDD e PCDF, per i dati relativi all'olio di pesce proveniente dal nord Europa non è stato possibile alcun tipo di valutazione in considerazione dell'alta frequenza dei congeneri "non determinabili" (<LD). Nella Figura III.2 sono riportati i risultati ottenuti nella determinazione di PCDD e PCDF nel campione di olio del Sud America. In tale campione, la variabilità (CV%) interlaboratorio è risultata buona ( $<|\pm 30\%|$ ) per i congeneri presenti a concentrazioni superiori a 0.5 pg/g *fw*. Negli altri casi la variabilità dei dati, anche se superiore al 30 %, è tuttavia compatibile con i bassi livelli di contaminazione, prossimi ai limiti di determinazione dei metodi impiegati. In proposito si fa presente che tali limiti sono comunque coerenti con quanto riportato dalla normativa di riferimento in campo alimentare che prescrive, per PCDD e PCDF, l'uso di metodi di analisi caratterizzati da limiti di determinazione almeno dell'ordine del pg (Regolamento 1883/06/CE).

049. Per i DL-PCB, le Figure III.3 e III.4 presentano i risultati ottenuti per i campioni di olio di pesce provenienti rispettivamente dal nord Europa e dal Sud America dalle diverse unità operative. Nel complesso la variabilità interlaboratorio

dei dati è risultata entro  $|\pm 30 \text{ \%}|$  solo per la metà dei congeneri analizzati. Per gli altri, i risultati ottenuti hanno richiesto ulteriori approfondimenti al fine di migliorare e armonizzare le procedure analitiche impiegate.

050. Per quanto riguarda i NDL-PCB (Figure III.5 e III.6), i dati forniti in duplicato da ciascuna unità operativa per entrambi i campioni di olio mostrano una buona comparabilità fra i laboratori, con una variabilità dei dati (CV%) interlaboratorio entro  $|\pm 20 \text{ \%}|$ .

051. In relazione alla componente acidica, l'unità operativa CRIPS ha condotto una prova d'intercalibrazione in doppio interfacciandosi con il laboratorio di gas cromatografia dell'Università di Camerino (San Benedetto del Tronto). Per la prova in questione è stata utilizzata la metodica descritta nell'Allegato 4. I risultati ottenuti sono riassunti nella Tabella III.1.

## BURRO

052. Ciascuna delle quattro unità operative incaricate dell'analisi dei contaminanti organici ha ricevuto un'aliquota di campione di burro al fine di determinare PBDE, PCDD, PCDF, e PCB. Tale campione era caratterizzato per i contaminanti d'interesse da "valori di consenso" definiti nell'ambito del circuito interlaboratorio organizzato nel 2007 dal Norwegian Institute of Public Health (Horpestead Line & Becher, 2007).

053. Sulla base dei dati congenere-specifici forniti dalle singole unità operative è stato calcolato il valore di *z-score* utilizzando la seguente equazione:

$$z\text{-score} = \frac{x_i - X_{\text{cons}}}{\sigma}$$

dove,

- $x_i$  è il dato congenere-specifico fornito dalla singola unità operativa nel test d'intercalibrazione
- $X_{\text{cons}}$  è la concentrazione di consenso congenere-specifica assegnata all'analita nel circuito interlaboratorio in cui il materiale è stato analizzato
- $\sigma$  è il valore target della deviazione standard, pari al 20 % della concentrazione di consenso.

In accordo con quanto stabilito dalla norma ISO/IEC 17043:2010 si è assunto quale valore accettabile uno *z-score* compreso fra  $-2$  e  $+2$ . Anche in questo caso, sono stati esclusi dall'elaborazione statistica tutti quei dati forniti come "non determinabili" ( $<LD$ ).

054. Come è osservabile in Figura III.7 la determinazione dei PBDE è stata eseguita da un'unica unità operativa che ha fornito, per i congeneri quantificabili, risultati generalmente in linea con i "valori di consenso". Deviazioni apprezzabili si evidenziano solo per il PBDE 209 ( $z\text{-score} > |\pm 4|$ ).

055. Per ciò che concerne i PCDD e PCDF (Figura III.8), due unità operative hanno fornito risultati generalmente congruenti con i requisiti di accettabilità richiesta. La terza unità ha prodotto dati spesso "non determinabili" ( $<LD$ ) a livello di congenere, verosimilmente in relazione al fatto che la contaminazione della matrice in questione era marcatamente bassa, come d'altra parte si evince confrontando il valore di consenso in unità TE con il limite normativo pertinente.

056. Per quanto riguarda i DL-PCB (Figura III.9), i requisiti di accettabilità sopra indicati sono generalmente rispettati nella maggior parte dei dati relativi ai mono-*orto* DL-PCB. Meno valutabile è la situazione dei non-*orto* DL-PCB per carenza di dati relativi alle determinazioni effettuate dai diversi laboratori. Si rileva a riguardo come le due determinazioni inerenti il DL-PCB 126 (di particolare importanza per il suo TEF elevato) rientrino nei limiti di accettabilità stabiliti.

057. In relazione ai sei NDL-PCB "indicatori", la valutazione dei risultati è stata condotta esclusivamente sui congeneri 138, 153, e 180 che, sulla base dei "valori di consenso", contribuiscono mediamente per il 98 % alla frazione dei PCB "indicatori". Come è evidente in Figura III.10, tutti i risultati forniti dalle tre unità operative soddisfano i requisiti di accettabilità richiesta essendo associati a valori di  $z\text{-score}$  compresi fra  $-2$  e  $+2$ .

## ANGUILLA

058. Le unità operative incaricate dell'analisi dei contaminanti organici hanno ricevuto due campioni identici, identificati come QUAL 1 e QUAL 2, oggetto di un circuito d'intercalibrazione interlaboratorio organizzato nel 2008 dal Norwegian Institute of Public Health, in seguito al quale sono state determinate le "concentrazioni di consenso" per PCDD, PCDF, e PCB. Alle unità operative è stato chiesto di effettuare due determinazioni indipendenti per ciascun campione (quattro in totale) da effettuarsi in modo sostanzialmente omogeneo nel corso delle varie sessioni analitiche, ciascuna comprendente anche i campioni reali di interesse per il Progetto.

059. La valutazione dei dati è stata fatta sulla base dei valori di  $z\text{-score}$  calcolati a partire dai risultati congenere-specifici utilizzando l'equazione precedentemente riportata e secondo i requisiti di accettabilità descritti (cfr. 053). Anche in questo caso sono stati esclusi dalla valutazione i risultati espressi come "non determinabili" ( $<LD$ ).

060. La Figura III.11 mostra i valori di *z-score* relativi a PCDD e PCDF ottenuti dall'IZSLT e dall'ISS nell'analisi, rispettivamente, di una e quattro aliquote del campione d'interesse. Nel complesso i dati sono risultati accettabili, essendo caratterizzati da valori di *z-score* compresi generalmente tra  $-2$  e  $+2$ . Fanno eccezione alcuni congeneri meno tossici, in particolare l' $O_8$ CDD e l' $O_8$ CDF, per i quali i valori di *z-score* sono caratterizzati da maggiore variabilità ma sono comunque compresi nell'intervallo tra  $0$  e  $-3$ . Si fa presente che in tutte le determinazioni effettuate i valori di *z-score* associati alle stime cumulative espresse in unità WHO-TE sono risultate pari a  $-1$ .

061. I risultati relativi ai DL-PCB sono riportati in Figura III.12 che mostra i valori di *z-score* ottenuti dall'IZSLT e dall'ISS nell'analisi, rispettivamente, di due e quattro aliquote del campione di anguilla. In generale gli *z-score* calcolati dimostrano un buon accordo tra i valori sperimentali e quelli di consenso. Gli unici dati limitatamente congruenti si osservano nel caso del PCB 169 che, però, contribuisce in misura trascurabile ( $<0.5\%$ ) alla sommatoria dei DL-PCB espressa in unità WHO-TE.

062. In relazione ai NDL-PCB la Figura III.13 mostra gli *z-score* ottenuti dall'ISS per i sei PCB "indicatori". Come è osservabile, i dati sono in ottimo accordo con i "valori di consenso", come dimostrato dai valori di *z-score* in generale compresi fra  $-1$  e  $+1$ .

## LATTE

063. Poiché era previsto che solo un'unità operativa eseguisse determinazioni sugli elementi metallici, sono state fornite alla predetta unità sei aliquote di latte vaccino liofilizzato scelte casualmente da un vasto insieme, d'omogeneità verificata, di tale matrice. L'insieme era caratterizzato da alcuni "valori di consenso", di cui due, inerenti le concentrazioni di Cd e Pb, d'interesse specifico per gli accertamenti del Progetto.

064. Ciascuna delle sei aliquote è stata sottoposta a 3–6 determinazioni; sulla base di tutti i risultati ottenuti è stata calcolata la concentrazione media ( $\langle X \rangle$ ) di ciascun analita, escludendo nell'elaborazione statistica i dati non quantificabili ( $<LD$ ). La Figura III.14 mostra i risultati di tale elaborazione. Nel caso di Cd e Pb che, insieme al Hg, sono gli unici elementi metallici tra quelli analizzati per i quali in campo alimentare è stabilito un limite normativo (Regolamento 1881/06/CE; Regolamento 629/08/CE), la dispersione dei risultati appare ridotta ( $CV\% < |\pm 10\%|$ ). In generale, per tutti i metalli la variabilità in termini di errore standard è compresa tra l'1 e il 17 %, con l'esclusione del Cr (36 %) e del Hg totale (risultati  $<LD$  in tutte le aliquote analizzate).

065. Per Cd e Pb, per i quali era disponibile un “valore di consenso”, sono stati calcolati i valori di *z-score* associati a ogni singola determinazione effettuata secondo le modalità già precedentemente riportate (cfr. 053). Come è evidente in Figura III.15 tali valori risultano sempre compresi nell’intervallo di accettabilità stabilito (cfr. 053).

## APPROCCIO STATISTICO ALL’ANALISI DEI DATI

066. Data la variabilità ipotizzata (varie sostanze chimiche, differenti aree di campionamento, differenti specie), il trattamento statistico dei dati è stato adattato progressivamente e ottimizzato per fornire le interpretazioni più plausibili della variabilità osservata. I dati delle singole sostanze sono stati caratterizzati per le loro distribuzioni di frequenza evidenziando ogni volta la tipologia di distribuzione teorica di riferimento tra distribuzioni-modello utili per caratterizzare dati di contaminazione chimica ambientale: normale, log-normale, etc. (McBean & Rovers, 1998). Quando nessuna delle suddette distribuzioni risultava essere in grado di spiegare la variabilità osservata, si assumeva che la sostanza di interesse fosse *distribution-free*. Ciò, in parte, determinava le scelte successive quando si andava a verificare l’esistenza di differenze sito-specifiche che richiedevano l’uso di approcci multivariati. In particolare, tra questi ultimi, quando le sostanze risultavano *distribution-free*, è stato necessario ricorrere ad approcci non-parametrici.

067. La caratterizzazione delle distribuzioni campionarie è stata effettuata mediante parametri standard come mediana, media ( $\langle X \rangle$ ), deviazione standard (SD), e stime dei percentili. Pragmaticamente si è assunto come modello di riferimento la distribuzione di frequenza log-normale poiché ha un considerevole potenziale per descrivere i dati di qualità ambientale (McBean & Rovers, 1998). La log-normalità delle distribuzioni è stata controllata mediante il test di *Shapiro-Wilks* e del *Chi-quadro*, con ipotesi nulla associata a log-normalità ( $P \geq 0.05$ ). Quando, invece, l’ipotesi nulla è stata rifiutata ( $P < 0.05$ ), le distribuzioni di frequenza relative sono state definite *distribution-free*.

068. Per il confronto intersito, un tipico problema di classificazione, sono state adottate due tecniche multivariate, l’analisi discriminante canonica e le reti neurali probabilistiche (PNN). La prima delle due richiede che le variabili siano distribuite normalmente o log-normalmente. Inoltre, in questa analisi al fine di mantenere un potenziale discriminatorio elevato, è importante avere un rapporto tra la classe a minor numerosità campionaria (area di Monopoli) e le variabili prese in considerazione variante tra tre e cinque (Fielding, 2007). Ciò, in termini pratici, ha determinato che nel calcolo delle funzioni discriminanti i dati delle sostanze con una distribuzione log-normale siano stati aggregati in gruppi non superiori a tre.

Le reti neurali probabilistiche sono una tecnica non-parametrica multivariata che richiede condizioni standard tipiche per un'analisi multivariata con un numero di campioni maggiore del numero di variabili e non fa assunzioni sulla distribuzione delle variabili (Brereton, 2003).

069. L'analisi discriminante è uno dei metodi più comuni e largamente usati per la classificazione dei dati sperimentali. Con essa si crea una nuova variabile, combinazione dei valori originali (gli analiti). Rispetto a questa nuova variabile, infine, le eventuali differenze tra i gruppi predefiniti (le aree di campionamento), vengono massimizzate. L'obiettivo quindi è quello di combinare gli *scores* delle variabili in maniera tale che venga prodotta una singola e nuova variabile composita, *the discriminant score*. Questi *scores* vengono calcolati da una funzione discriminante che ha la seguente forma:

$$D = w_1Z_1 + w_2Z_2 + \dots + w_iZ_i$$

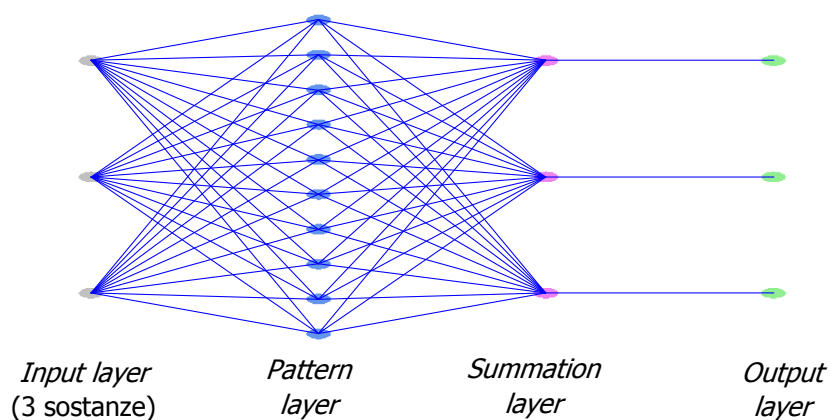
dove

- $D$  = *discriminant score*
- $w_i$  = peso (coefficiente) della variabile  $i$ -esima
- $Z_i$  = *score* standardizzato per la variabile  $i$ -esima

070. Il riassunto delle funzioni discriminanti include i seguenti parametri: valore di autovettore ( $\lambda$ ), percentuale di variabilità, *Wilk's lambda*, *Chi-quadro*, gradi di libertà, e la probabilità. In tutti i casi analizzati la significatività delle stime è riferita a  $P = 0.05$ . Un valore elevato di autovettore indica una elevata separazione tra i gruppi presi in considerazione per quella funzione; la percentuale di variabilità indica l'importanza della funzione nel descrivere i dati; il parametro *Wilk's lambda* è una misura del potere discriminante rimanente nelle variabili, i suoi valori prossimi allo zero indicano un elevato potere discriminante; valori di *Chi-quadro* indicano se la funzione risulta discriminante dal punto di vista significativo.

071. Il classificatore *Probabilistic Neural Network* (PNN) è un metodo non-parametrico per classificare le osservazioni in uno dei gruppi basati sulle variabili quantitative osservate. Non fa assunzioni sulla natura della distribuzione delle variabili entro ogni gruppo e costruisce una stima non-parametrica della funzione di densità di ogni gruppo a una specifica posizione basata sulle osservazioni vicine a quel gruppo stesso. Le osservazioni sono poi assegnate ai gruppi sulla base del prodotto di tre fattori: i) la stima della funzione di densità nella vicinanza del punto, ii) le precedenti probabilità di appartenenza a uno specifico gruppo, iii) il costo di una errata classificazione dei casi che appartengono a uno specifico gruppo. L'approccio può essere descritto da un *network* neurale come il seguente in cui tre variabili (tre sostanze), quarantadue campioni (i pesci selvatici), e tre

gruppi (le tre aree di campionamento) vengono presi in considerazione contemporaneamente:



072. Per quanto riguarda gli elementi di variabilità interspecifica i campioni sono stati analizzati per mezzo di vari approcci. Con NDL-PCB e MeHg, come sostanze chimiche modello, è stata valutata la relazione tra il *body burden* nel pescato e la lunghezza e il peso. Con una *Cluster Analysis* di tipo gerarchico e con una *Factor Analysis* (Fielding, 2007) sono state analizzate le eventuali segregazione per specie o gruppi di specie, rispettivamente, per PCDD e PCDF, DL-PCB, e tutti i metalli. La *Cluster Analysis* di tipo gerarchico costituisce un approccio in grado di trovare strutture nei dati identificando il loro raggruppamento naturale. Ciò viene attuato mediante un ampio spettro di algoritmi con caratteristiche diverse. Nel nostro caso, la selezione degli algoritmi e delle misure di distanza più appropriate sono di tipo agglomerativo. Per quanto concerne la *Factor Analysis* (FA), dal punto di vista metodologico raggiunge una riduzione dimensionale dei dati simile a quella della *Principal Component Analysis* (PCA) ma può essere usata tanto a livello esplorativo quanto a livello confermatario. La PCA, infatti, è una tecnica orientata a spiegare la varianza dei dati mentre l'algoritmo della FA riguarda solo le correlazioni tra le variabili: essa assume che le correlazioni osservate nei dati siano causate da fattori sottostanti risultanti dalla presenza di un certo numero di influenze predeterminate possibili (Fielding, 2007).

## SEZIONE IV — RISULTATI E DISCUSSIONE

### DISTRIBUZIONI DI FREQUENZA DEI CONTAMINANTI CHIMICI

073. I dati presi in considerazione per le valutazioni statistiche sono riportati nelle Tabelle IV.1–8 (sono assenti i dati relativi ai HO-PCB e ai PBDD e PBDF per i motivi successivamente discussi, cfr. 076 e 084). La strategia per discutere la seguente sezione intenzionalmente non prende in considerazione delle differenze tra pesce selvatico e pesce allevato perché, idealmente, la tipologia di campioni considerata rappresenterebbe la scelta che un consumatore medio può trovare andando ad acquistare del pesce nella grande distribuzione. Inoltre, la scarsa numerosità campionaria del pesce allevato estero ( $N = 3$ ) consente di effettuare, rispetto al pesce selvatico, una valutazione comparativa solo di carattere indicativo. Le Tabelle IV.9–15 riportano i parametri delle distribuzioni di frequenza degli analiti determinati nei campioni. Come risulta evidente, Cd, PFOA, *alfa*-HCH, *beta*-HCH, *gamma*-HCH, HCB, Eptacloro, Endrin, Dieldrin, *t*-Clordano, *c*-Clordano, Aldrin, 4,4'-DDT, 2,4'-DDE, 2,4'-DDD, *alfa*-HCH, e i radionuclidi non sono stati riportati perché per l'analisi statistica sono stati presi in considerazione solo sostanze o gruppi di sostanze con una percentuale di dati "non determinabili" ( $<LD$  o  $nd$ ) inferiore al 50 %. Tale criterio risulta essere più stringente di quello adottato dall'EFSA sulla base della linea guida dell'WHO considerata nell'ambito del *Food Contamination Monitoring and Assessment Programme* (GEMS/FOOD, 2003).

074. Dalla mancanza della stima dell'intervallo fiduciale ( $CI_{95\%}$ ) nelle Tabelle IV.9–15, è possibile individuare quegli analiti che non mostrano una distribuzione log-normale (*distribution-free*). In questo caso, i parametri descrittivi più importanti sono la mediana e la deviazione assoluta dalla mediana (MAD), che fornisce la stima della dispersione. Complessivamente, fra le distribuzioni analizzate, sono risultate *distribution-free* quelle relative a 2,4'-DDT, 4,4'-DDE, 4,4'-DDD, Hg organico, Cu, Pb e V. Complessivamente la gran maggioranza dei dati, quindi, appare distribuita non log-normalmente e la maggiore influenza su questa caratteristica sembra essere costituita dal numero di dati  $nd$  per ogni *database*.

075. In quest'ottica, un'anomalia appare costituita dagli analiti Hg organico e Cu che, pur essendo adeguatamente rappresentati in termini numerici, non mostrano la log-normalità attesa. Per cui entrambe le distribuzioni sono state sottoposte a studio degli *outlier* con il test di *Grubbs*. In quest'ambito, il Cu e il Hg organico continuano a essere non-normali (test di *Shapiro-Wilks*,  $P = 0.05$ ) ed evidenziano,

rispettivamente, l'esistenza di un *cluster* di dati a concentrazione più elevata e un certo numero di valori nd nella parte bassa della distribuzione. Entrambi questi fattori sembrano essere la causa di tale distorsione. Perciò, mentre la distribuzione del Hg organico ricade nella casistica più generale precedentemente evidenziata, i livelli di Cu offrono uno spunto di riflessione poiché tutti i valori più elevati sono stati determinati nei crostacei. Nella parte che segue vengono descritte le distribuzioni per sostanza o gruppo di sostanze, e discusse le differenze, se presenti, tra pesce selvatico, allevato nostrano, e allevato estero.

## COMPOSTI ORGANICI BROMURATI

076. Nell'ambito di questi composti, vengono presi in considerazione solo i PBDE. PBDD e PBDF, infatti, non hanno mostrato risultati valutabili sotto le condizioni poste in questo studio (cfr. 073): in tutti campioni analizzati tutti i congeneri sono risultati al di sotto del limite di determinazione (<LD) fornendo una stima cumulativa *upper bound* compresa tra 0.148 e 20.2 pg/g *fw*. I PBDE, le cui caratteristiche sono descritte nella pertinente scheda, sono presenti in tutti gli organismi analizzati (Figura IV.1). La mediana della distribuzione, la media, e il *range* di concentrazioni individuati sono, rispettivamente, 0.377, 0.415, e 0.029–7.22 ng/g *fw*. Nell'ambito di questi valori, il pesce selvatico mostra un *range* di 0.071–3.34 ng/g *fw*, l'allevato nostrano mostra concentrazioni approssimativamente entro il  $Q_{.75}$  della distribuzione, mentre tra i campioni di allevato estero il pangasio mostra la concentrazione più elevata (7.22 ng/g *fw*) (Tabella IV.9).

077. Appare interessante confrontare tali valori con quelli riportati nel recente rapporto EFSA (2011e). L'EFSA ha tenuto conto prioritariamente dei congeneri 28, 47, 99, 100, 153, 154, e 183, e solo occasionalmente del congenere 209. Ai fini di una comparazione per quanto possibile sostanziata, quest'ultimo congenere non è stato considerato. Relativamente ai sette congeneri d'interesse, la media EFSA è 0.71 ng/g *fw*, compatibile con la media degli stessi congeneri determinata in questo progetto (0.33 ng/g *fw*) e il relativo *range* di 0.003–2.98 ng/g *fw*. Si evidenzia che i sette congeneri utilizzati per il confronto costituiscono l'80 % circa del cumulativo totale relativo ai 13 PBDE analizzati.

## POLICLORODIBENZODIOSSINE, POLICLORODIBENZOFURANI, E POLICLOROBIFENILI DIOSSINA-SIMILI

078. Le tre componenti di questo gruppo, PCDD, PCDF, e DL-PCB sono state determinate con un'ampia variabilità in tutti gli esemplari del panorama campionario (Figure IV.2–4). Per quanto concerne PCDD+PCDF, la mediana, il valore medio, e il *range* di concentrazioni della distribuzione di frequenza (Tabella IV.10) sono, rispettivamente, 0.149, 0.163, e 0.0240–1.48 pgWHO-TE<sub>97</sub>/g *fw*. Nell'ambito di questo *range* il pesce selvatico presenta l'intervallo di concentrazione più ampio mentre, l'allevato nostrano e l'allevato estero mostrano

valori entro il  $Q_{.75}$  della distribuzione (Tabella IV.10 e Figura IV.2). Tutti i valori descritti sono inferiori al tenore massimo consentito per l'alimento in questione (ML, 4.0 pgWHO-TE<sub>97</sub>/g *fw*; Regolamento 1881/2006/CE) e al pertinente livello d'azione (AL, 3.0 pgWHO-TE<sub>97</sub>/g; Raccomandazione 88/06/CE) (cfr. Tabella A.2).

079. I DL-PCB hanno concentrazioni mediane, medie e di *range* rispettivamente pari a 0.484, 0.520, e 0.012–15.1 pgWHO-TE<sub>97</sub>/g *fw*. Come già osservato per PCDD+PCDF, il pesce selvatico mostra un *range* di variabilità più ampio, l'allevato nostrano si colloca al di sotto del  $Q_{.75}$ , e il pesce allevato estero al di sotto del  $Q_{.10}$ . Meno del 5 % della distribuzione di frequenza descritta in Tabella IV.10 supera il pertinente livello d'azione (AL, 3.0 pgWHO-TE<sub>97</sub>/g; Raccomandazione 88/06/CE) (cfr. Tabella A.2).

080. Infine, come totali WHO-TE la mediana, la media, e il *range* di concentrazioni sono 0.661, 0.745, e 0.0513–16.6 pgWHO-TE<sub>97</sub>/g *fw*. Rispetto al selvatico (0.207–16.6 pgWHO-TE<sub>97</sub>/g *fw*), l'allevato nostrano e quello estero, mostrano tutti valori entro la mediana e la media della distribuzione. Meno del 5 % della distribuzione di frequenza della Tabella IV.10 supera il tenore massimo consentito (ML, 8.0 pgWHO-TE<sub>97</sub>/g *fw*; Regolamento 1881/2006/CE) (cfr. Tabella A.2).

081. D'attualità è il confronto di questi dati con l'andamento della contaminazione in Europa come riportato nel recente rapporto EFSA *Results of the monitoring of dioxin levels in food and feed* (EFSA, 2010a) relativamente alla classe di alimenti "*muscle meat fish and products excl. eel*". Le medie (e le mediane) Europee riportate per PCDD+PCDF, DL-PCB, e totali WHO-TE sono rispettivamente 1.89 (0.42), 2.08 (0.89) e 3.97 (1.35) pgWHO-TE<sub>97</sub>/g *fw*. I valori mediani delle distribuzioni di frequenza determinati in questo progetto sono il 50 % o meno dei corrispondenti valori Europei. In altri termini, prendendo in considerazione i  $Q_{.90}$ , e confrontando la concentrazione rilevata in questo studio con quella Europea, emerge che il valore rilevato (2.88 pgWHO-TE<sub>97</sub>/g *fw*, cfr. Tabella IV.10) è circa un terzo del tenore massimo ammissibile di 8.0 pgWHO-TE<sub>97</sub>/g (Regolamento 1881/06/CE) mentre il valore Europeo è superiore di circa un terzo (11.2 pgWHO-TE<sub>97</sub>/g *fw*).

#### POLICLOROBIFENILI NON-DIOSSINA SIMILI E IDROSSILATI

082. Nella distribuzione di frequenza riportata in Figura IV.5 e Tabella IV.11, la mediana, la media, e l'intervallo di concentrazione per i NDL-PCB ( $\Sigma_{30}$  NDL-PCB) sono, rispettivamente, 9.10 (4.25 per i PCB "indicatori"), 9.98 (4.69 per i PCB "indicatori"), e 0.337–413 ng/g *fw* (0.144–148 per i PCB "indicatori"). Rispetto al pesce selvatico che mostra *range* di concentrazioni per gli NDL-PCB ( $\Sigma_{30}$  NDL-PCB) pari a 1.50–413 ng/g *fw* ( $\Sigma_6$  NDL-PCB, 0.768–148 ng/g *fw*), l'allevato nostrano e l'allevato estero mostrano, rispettivamente, livelli entro la mediana o media della distribuzione e inferiori al  $Q_{.10}$ .

083. Il confronto con la stima EFSA (EFSA, 2005b) della contaminazione da NDL-PCB della classe di alimenti *Fish and fishery products* appare d'interesse. Nel pertinente rapporto vengono indicate le caratteristiche di una distribuzione di frequenza utile per la comparazione con i valori prodotti in questo rapporto relativa ai sei PCB "indicatori". La mediana della distribuzione rilevata in questo studio (4.25 ng/g *fw*) risulta superiore rispetto a quella Europea senza pesci del Mar Baltico (2.59 ng/g *fw*), anche se dello stesso ordine di grandezza. Confrontando i valori di  $Q_{.90}$  per le due distribuzioni (20.9 e 19.6 ng/g *fw*, rispettivamente), però, emerge che la grande maggioranza dei dati e della distribuzione di frequenza determinata in questo studio corrisponde alla distribuzione della contaminazione rilevata in Europa. I pesci allevati nostrani mostrano un *range* di concentrazioni il cui estremo superiore è collocato tra la mediana e la media della distribuzione di frequenza mentre l'allevato estero è sotto il valore di  $Q_{.10}$ .

084. Per ciò che concerne i HO-PCB nei campioni di siero di pesce, si ricorda che la pertinente attività di campionamento è stata limitata al solo pesce allevato (cfr. 025). Inoltre, poiché la quantità di sangue prelevabile dal singolo esemplare non era sufficiente per ottenere un volume di siero utile per l'analisi, la determinazione di tali sostanze è stata eseguita su campioni *pool* costituiti da contributi equponderali di siero provenienti da esemplari della stessa specie (cfr. 030). Tali campioni, sottoposti alla procedura analitica descritta nell'Allegato 1, hanno mostrato concentrazioni di HO-PCB in genere "non determinabili" (fa eccezione il 4-OH-PCB 187 che nell'orata è stato determinato a una concentrazione media di 0.056 ng/g *fw*). Pertanto, in attesa di migliorare la sensibilità della procedura utilizzata, i dati relativi ai HO-PCB sono da ritenersi puramente indicativi e non sono stati riportati nel presente Rapporto.

## PESTICIDI ORGANOCLORURATI

085. Tra tutti i pesticidi clorurati analizzati solo tre presentano un numero di dati utilizzabile per un'analisi di distribuzione di frequenza. Questi afferiscono tutti al DDT e ai suoi metaboliti e sono, in particolare, il 2,4'-DDT (Figura IV.6), il 4,4'-DDE (Figura IV.7), e il 4,4'-DDD (Figura IV.8). Tra questi, nessuno presenta una distribuzione log-normale: al riguardo, si osserva l'alto numero di nd presenti nel *database*. Rispettivamente, le mediane per questi tre analiti sono 14.5, 123, e 7.19 ng/g *fw* (Tabella IV.12).

086. L'alto numero di nd nel *database* sembra suggerire che l'uso questi pesticidi non sia molto comune nell'area mediterranea, eventualmente a seguito dell'applicazione della Convenzione di Stoccolma (cfr. 003). Perciò, l'inquinamento residuo è di vecchia data e, nel seguito, i risultati ottenuti sono stati confrontati solo con stime effettuate in paesi dove questi pesticidi sono ancora usati. Anche

per queste sostanze appare interessante differenziare i *range* rispettivi di contaminazione per i tre raggruppamenti di campioni presi in considerazione: pesce selvatico, allevato e allevato estero. Nel caso dell'allevato estero tutti i valori risultano essere al di sotto dei rispettivi limiti di determinazione mentre quelli degli allevati nostrani sono nella distribuzione di frequenza.

087. Pesci marini del mercato di Hong Kong (Cheung et al., 2007) hanno mostrato un *range* di contaminazione di 4,4'-DDT, 4,4'-DDE, e 4,4'-DDD di nd–83.6, 1.78–100, e nd–225 ng/g *fw*. Un lavoro più recente e maggiormente focalizzato su specie monitorate in questo progetto e campionate, in larga parte, anche in aree di nostro interesse è quello di Kalyoncu et al. (2009). I *range* di 4,4'-DDT, 4,4'-DDE, e 4,4'-DDD in questi pesci sono, rispettivamente, 87–414, 29–127, e 60–389 ng/g *fw*. Tenendo presente che le concentrazioni citate si riferiscono a pesci marini selvatici, i *range* di concentrazione non differiscono da quelli evidenziati in questo studio a esclusione di quello relativo al 4,4'-DDE. Per quest'ultimo, poco meno del 50 % dei valori rilevati in questo studio risulta essere superiore al *range* citato, anche se la mediana vi rientra (123 ng/g *fw*). Ciò potrebbe essere dovuto alle diverse dimensioni dei pesci, non riportate nello studio citato, oppure a fattori relativi all'uso ambientale del DDE. Infatti, il DDE è un prodotto di degradazione del DDT, bandito negli anni '70, ma è anche stato usato come pesticida di per sé. Tra i tre pesticidi/metaboliti presi in considerazione solo il 4,4'-DDE sembra d'interesse ai fini della comparazione con gli allevati. Al riguardo, si rileva come le concentrazioni rilevate nei pesci allevati nostrani siano tutte inferiori ai descrittori medi della distribuzione di frequenza riportati in Tabella IV.12. In generale, la maggiore frequenza di valori diagnosticabili di metaboliti come il DDE e il DDD rispetto al progenitore DDT è indicazione di una contaminazione pregressa.

## COMPOSTI PERFLUORURATI

088. L'EFSA recentemente ha pubblicato due documenti riguardanti la presenza di composti fluoroalchilici negli alimenti (EFSA, 2008 e 2011a). Secondo questa fonte, l'esposizione dovuta ai pesci potrebbe essere la più rilevante e, perciò, appare di grande interesse la valutazione del contributo relativo del pesce mediterraneo rispetto a quello Europeo. Il PFOS (perfluorooottano solfonato) risulta, tra l'altro, l'unico tra tutti i composti presi in considerazione a essere determinato con una frequenza elevata. Ciò è vero anche in questo studio in quanto l'altro composto fluoroalchilico preso in considerazione, il PFOA (acido perfluorooottanoico), è stato determinato solo in un numero ristretto di campioni.

089. La distribuzione di frequenza del PFOS (Figura IV.9) ha una mediana e un *range* di livelli di 0.590 e 0.050–5.96 ng/g *fw* (Tabella IV.13). Nell'ambito del profilo della distribuzione si osserva un elevato numero di nd che influenzano notevolmente la sua assenza di log-normalità. Nel muscolo di pesce, la concentrazione mediana rilevata in Europa è di 1 µg/g *fw* e il *range* di 0.03–153

$\mu\text{g/g fw}$  mentre la distribuzione di frequenza nei crostacei ha una mediana  $<1 \mu\text{g/g fw}$  e un *range* di  $0.09\text{--}46 \mu\text{g/g fw}$  (EFSA, 2011a). Questi dati, per quanto differenziati in termini di pesci e crostacei (contrariamente a quelli presentati in questo studio), mostrano chiaramente dei valori di gran lunga superiori a quelli determinati nell'ambito di questo progetto. Per quanto concerne i pesci allevati nostrani ed esteri, i valori pertinenti risultano tutti al di sotto del valore di  $Q_{10}$ .

## MERCURIO TOTALE E MERCURIO ORGANICO

090. Il mare Mediterraneo è costantemente associato con la contaminazione da Hg in quanto il metallo è praticamente ubiquitario in questo bacino, anche in relazione, nel recente passato, ad attività estrattive (UNEP, 2002). La sua distribuzione nei pesci dei tre bacini campionati (Figura IV.10) ha i seguenti valori come mediana, media e *range*:  $0.165$ ,  $0.190$ , e  $0.011\text{--}2.00 \mu\text{g/g fw}$  (Tabella IV.14). Nell'ambito di questo *range*, possiamo distinguere rispetto al pesce selvatico ( $0.061\text{--}2.00 \mu\text{g/g fw}$ ), l'allevato nostrano e quello estero che rispettivamente risultano essere tra il  $Q_{25}$  e la media della distribuzione.

091. Nella normativa vigente per il Hg totale esistono due tenori massimi ammissibili, in funzione della tipologia di prodotto ittico (Regolamento 1881/06/CE). Tali livelli sono  $0.50$  e  $1.0 \mu\text{g/g fw}$  che, nell'ambito della distribuzione di frequenza indicata in Tabella IV.14 e in Figura IV.10, sono collocati rispettivamente tra  $Q_{75}$  e  $Q_{90}$  e tra  $Q_{90}$  e  $Q_{95}$ . La maggior porzione della distribuzione risulta essere al di sotto di questi due limiti normativi anche se a livello specie-specifico sono stati osservati alcuni sforamenti. La concentrazione media calcolata in ambito Europeo ( $N = 14912$ ) è di  $0.109 \mu\text{g/g fw}$  (SCOOP, 2004). La mediana e la media determinate in questo studio sono rispettivamente circa  $1.5$  e  $1.7$  volte tale media, confermando la situazione specifica del mare Mediterraneo.

092. Il Hg organico, in questo studio individuato nel metilmercurio (MeHg), ha una distribuzione di frequenza con una mediana e un *range* rispettivamente di  $0.131 \mu\text{g/g fw}$  e di  $0.022\text{--}1.93 \mu\text{g/g fw}$  (Figura IV.11). Rispetto al *range* di valori riscontrati nel selvatico ( $0.030\text{--}1.93 \mu\text{g/g fw}$ ), il pesce allevato nostrano e quello estero mostrano la stessa tendenza osservata per il Hg totale. Tenendo conto della significatività della correlazione tra Hg totale e Hg organico osservata in questo studio (Figura IV.12)

$$\text{LOG}_{10}[\text{Hg organico}] = -(0.13 \pm 0.040) + (1.032 \pm 0.046) \text{LOG}_{10}[\text{Hg totale}]$$

$$r^2 = 90.7 \%, r = 0.952, P < 0.01; F = 496, P < 0.0001$$

è possibile estrapolare le comparazioni fatte per il Hg tra il *database* di questo studio e i valori Europei anche al MeHg. Quindi, è presumibile che la mediana

della distribuzione di frequenza per il MeHg di questa distribuzione ecceda in maniera considerevole anche il corrispondente valore della mediana Europea.

## ARSENICO

093. Un aspetto fondamentale della pericolosità dell'As riguarda la sua forma chimica. Infatti la forma inorganica è più tossica di quella organica ma la maggior parte dei dati prodotti nel controllo ufficiale degli alimenti è ancora riportata come As totale senza la differenziazione tra le varie specie della sostanza. La necessità di individuare le singole specie chimiche è evidente perché in molte investigazioni è stato mostrato che negli organismi marini l'As è presente nella sua forma organica e, quindi, meno tossica (EFSA, 2009a).

094. In termini di distribuzione statistica, la distribuzione di frequenza (Figura IV.13) dei valori di As totale ha mediana, media, e *range* rispettivamente di 4.72, 4.32, e 0.099–56.7 µg/g *fw* (Tabella IV.15).

095. Le distribuzioni di frequenza riportate dall'EFSA (EFSA, 2009a) tengono conto di 5083 risultati, di cui 3503 riguardano i pesci e i prodotti della pesca. La mediana, la media, e il *range* riportati per questi ultimi sono rispettivamente 0.58, 1.45, e nd–195 µg/g *fw*, valori sensibilmente inferiori a quelli presentati dalla nostra distribuzione di frequenza che, però, include anche i crostacei. Tali organismi, infatti, sono stati considerati separatamente nel rapporto EFSA. Con stime effettuate su 344 risultati, i crostacei presentano le stime di mediana e media pari a 5.69 e 2.02 µg/g *fw*, che sono più elevate delle stesse pertinenti la distribuzione di frequenza dell'As nei pesci. I crostacei infatti, anche nella nostra distribuzione mostrano mediamente livelli di contaminazione più elevati (0.573–56.7 µg/g *fw*), con valori che non scendono mai al di sotto del doppio fino a 10 volte la sua media e che quindi influenzano significativamente i parametri della distribuzione. In termini di *range* di contaminazione, il pesce selvatico, l'allevato nostrano, e l'allevato estero mostrano valori sufficientemente sovrapponibili con il selvatico, anche se buona parte si trova al di sotto del valore di  $Q_{.25}$  della distribuzione.

## CROMO

096. Il Cr trivalente, che è la forma più stabile dal punto di vista termodinamico, è la specie chimica più comune nell'ambiente e quella a cui la popolazione generale è maggiormente esposta con la dieta (WHO, 2009). La tossicità di questo elemento è legata, però, alla specie esavalente che agisce come forte ossidante di molecole organiche (WHO, 1988). L'importanza del Cr trivalente in questo senso non è chiara.

097. I livelli di Cr hanno una distribuzione di frequenza caratterizzata da stime di mediana, media, e *range* di concentrazioni pari a 0.079, 0.079, e 0.030–0.221 µg/g *fw* (Tabella IV.15 e Figura IV.14). In uno studio effettuato lungo le coste Turche, corrispondenti al Mar di Marmara e ai mari Egeo e Mediterraneo, è stato riscontrato il *range* di contaminazione di 0.04–1.75 µg/g *fw* (Turkmen et al., 2008). Questo *range* copre un intervallo di concentrazione superiore a quello osservabile nella nostra popolazione di dati che, a sua volta, può essere suddivisa secondo il pesce selvatico, allevato nostrano, e allevato estero. I rispettivi *range* appaiono totalmente sovrapponibili. Appare d'interesse citare uno studio realizzato in New Jersey, in cui sono stati determinati svariati elementi in numerosi pesci e crostacei di interesse commerciale campionati in mercati pubblici (Burger & Gochfield, 2005). In questo lavoro, oltre a evidenziare una marcata specie-specificità di accumulo dei contaminanti oggetto della ricerca, la distribuzione di frequenza delle medie aritmetiche dei valori di Cr determinati su campioni della stessa specie, risultava essere 0.147 µg/g *fw* (mediana, 0.125 µg/g *fw*). Tale media è sensibilmente superiore a quella determinata nei nostri pesci. Può essere dovuta alle dimensioni dei pesci presi in considerazione e alla posizione trofica. Infatti, rispetto alle dimensioni dei pesci considerati nel nostro lavoro, è possibile supporre che gli esemplari campionati nel lavoro citato siano superiori.

## RAME

098. Questo metallo che ha anche funzioni micro nutrizionali non è esente da potenziale tossicologico e, infatti, veniva largamente usato nelle pitture vegetative delle imbarcazioni in associazione allo zinco come agente *antifouling*. Negli esemplari monitorati la distribuzione (Figura IV.15) mostra, in particolare, l'esistenza di due popolazioni di dati. Ciò, da un lato suggerisce che larga parte del pescato si trovi a livelli molto bassi e prossimi al limite di determinazione, e dall'altro l'esistenza di una marcata specie-specificità d'accumulo. Infatti, su 55 dati solo sette campioni hanno valori elevati ( $\geq 4.00$  µg/g *fw*). Inoltre, considerando solo i 48 dati che costituiscono il primo dei due raggruppamenti osserviamo che include solo pesci con una mediana e *range* pari rispettivamente a 0.444 e 0.105–1.66 µg/g *fw* (Tabella IV.15). I sette valori massimi che compongono il secondo raggruppamento includono, invece, tutti i crostacei e un pesce. In particolare, i valori riscontrati nei crostacei potrebbero essere influenzati significativamente dai livelli di Cu contenuti nell'emocianina (Lei et al, 2008), la proteina di trasporto dell'ossigeno negli artropodi e nei molluschi.

099. I valori di Cu riscontrati da altri autori in campioni di pesce del mare Mediterraneo orientale e del Mar Nero sono rispettivamente 0.32–6.48 µg/g *fw* (Tuzen, 2009) e 0.65–2.78 µg/g *fw* (Turkmen et al., 2008). In queste pubblicazioni vengono presi in considerazione pesci provenienti da diverse zone d'esposizione, includenti tanto aree a elevata esposizione presunta quanto aree caratterizzate da livelli di fondo. I valori riscontrati nei nostri pesci risultano essere prossimi ai livelli di fondo riscontrati in queste aree.

## NICHEL

100. Il Ni e i suoi composti hanno molti usi commerciali e industriali, come la placcatura di alcuni manufatti in combinazione con altri metalli. Altri usi riguardano la produzione di monete, articoli da gioielleria, e batterie. È un metallo di transizione del Gruppo VIII e può esistere in stati di ossidazione diversi ma l'unico di interesse ambientale sembra essere solo il Ni(II), nello stato di valenza +2. L'esposizione orale può essere associata a *outcomes* come dermatiti e cancro (Haber et al., 2000; Jensen et al., 2006).

101. La distribuzione di frequenza dei valori riscontrati in questo studio (Figura IV.16) ha mediana, media, e *range* di concentrazioni rispettivamente di 0.087, 0.085, e 0.033–0.387 µg/g *fw* (Tabella IV.15). I pesci allevati nostrani e quelli esteri mostrano livelli compatibili e di poco superiori alla mediana e alla media della distribuzione di frequenza. Nel complesso i livelli di contaminazione riscontrati nel presente studio sono compatibili con quelli riportati da Turkmen et al. (2008) per il Mar di Marmara, e per i mari Egeo e Mediterraneo Orientale nei quali è stato identificato un intervallo di concentrazione pari a 0.02–3.97 µg/g *fw*. Concentrazioni superiori in varie specie di pesce selvatico di grande interesse commerciale (1.14–3.60 µg/g *fw*) sono state invece trovate da Tuzen (2009) nel Mar Nero, una zona notoriamente sotto elevato impatto di carattere antropogenico ([www.undp.org](http://www.undp.org)).

## PIOMBO

102. La distribuzione di frequenza dei valori di Pb (Figura IV.17) presenta una mediana di 0.0170 µg/g *fw* e un *range* di concentrazioni che va da 0.005 a 0.542 µg/g *fw* (Tabella IV.15). La mediana riportata dall'EFSA per la classe "*total fish and seafood*" è lievemente superiore (0.04 µg/g *fw*) ma appare influenzata dai valori dei crostacei e dei molluschi che sono di un ordine di grandezza superiore rispetto a quelli dei pesci (EFSA, 2010b). Infatti, pesci, crostacei e molluschi presentano, rispettivamente, valori mediani di 0.02, 0.17 e 0.2 µg/g *fw* (EFSA, 2010b). I dati riportati in letteratura relativi a pesci di interesse commerciale, mostrano che valori come 0.28–0.87 µg/g *fw* sono stati determinati in esemplari provenienti dal Mar Nero (Tuzen, 2009). Parimenti, un *range* comparabile (0.33–0.86 µg/g *fw*) (Turkmen et al., 2008) è stato riportato per pesci provenienti dai mari intorno alla Turchia, Mar di Marmara, Egeo, e Mediterraneo. Per tutti, e in varie condizioni ambientali, i valori riportati risultano più elevati di un ordine di grandezza rispetto a quelli rilevati nell'ambito della nostra distribuzione. Questo appare di interesse poiché nei due lavori citati i valori si riferiscono solo a campioni di pesce, non di crostacei né di molluschi che, come osservato per la distribuzioni descritte nel rapporto EFSA, influenzerebbero significativamente la mediana della

distribuzione. Tra l'altro, nell'ambito della nostra distribuzione sia pesci selvatici che allevati non mostrano differenze di rilievo di *range* di contaminazione.

## STAGNO

103. Lo Sn inorganico non ha proprietà tossicologiche di grande rilevanza sebbene l'EFSA abbia valutato questa possibilità (EFSA, 2005c). Il principale fattore che ne limita la tossicità sistemica è che il 98 % dello Sn ingerito viene escreto con le feci. Tuttavia, effetti acuti gastrointestinali dovuti alla azione irritante dei suoi sali inorganici (stannosi) sono stati presi in considerazione ma essenzialmente riguardano cibi e bevande in scatola (EFSA, 2005c). La distribuzione di frequenza dei valori dei campioni (Figura IV.18) in studio presenta mediana, media, e *range* è di 0.008, 0.009, e 0.002–0.172 µg/g *fw* (Tabella IV.15). I livelli di rischio associabili con i suddetti effetti acuti, secondo l'EFSA, sono ben lontani dalle concentrazioni trovate, più di tre ordini di grandezza inferiori a quelle critiche. Nell'ipotesi fortemente conservativa che tutto lo Sn rilevato fosse sotto forma organica, l'esposizione dei consumatori (*consumers only*, cfr. 155 e 157) della popolazione generale non costituirebbe elemento di rischio addizionale poiché comunque inferiore al TDI definito dall'EFSA (EFSA, 2004) sia nel caso di consumi medi che degli alti consumi (Q<sub>95</sub>).

## VANADIO

104. Il V è largamente distribuito nella crosta terrestre. Si manifesta naturalmente nella forma di numerosi minerali e nei suoi composti si trova in differenti stati di ossidazione, di cui i più comuni sono +3, +4, e +5. È presente nell'ambiente in conseguenza di attività minerarie e industriali, e perché comune nei combustibili fossili. L'esposizione nella popolazione generale è veicolata prevalentemente dal cibo ma esistono solo delle stime approssimative di questa (WHO, 1988; WHO, 2001). La distribuzione di frequenza dei valori riscontrati nell'ambito dello studio (Figura IV.19) ha mediana, media, e *range* rispettivamente di 0.011, 0.013, e 0.002–0.484 µg/g *fw* (Tabella IV.15). Il pesce allevato, sia nostrano, sia estero, si colloca nella metà inferiore della distribuzione dei dati. La letteratura scientifica, per questo elemento, sembra essere particolarmente carente di informazioni pertinenti.

## RADIONUCLIDI

105. L'<sup>238</sup>U e il <sup>232</sup>Th sono gli isotopi più importanti dell'U e del Th naturali. Il <sup>239</sup>Pu è un isotopo del Pu e il primario isotopo fissile per la produzione di armi nucleari. Il Pu, di per sé, è quasi tutto di origine sintetica e fu preparato per la prima volta negli anni '40 ma se ne trovano tracce molto piccole nei minerali dell'U (Skwarzec, 1999). Nella letteratura scientifica internazionale stime di distribuzione

di queste sostanze nell'ambiente e nei pesci in particolare, sono molto scarse o assenti. L'EFSA ha prodotto un rapporto tecnico relativo solo all'U come tale (EFSA, 2009b) in cui le stime sul pesce sono di scarsa rilevanza. Una stima è stata riportata per il mare Adriatico (Bettinelli et al., 2004), in cui in pesci privati dell'acqua come spigola, triglia, e nasello è stato riscontrato un *range* di U di 51000–107000 pg/g *dw*. Il prodotto ittico campionato all'inizio degli anni 2000 per lo studio di Bettinelli et al., proveniva dall'area settentrionale del mare Adriatico al fine di verificare se l'uso bellico di U "depleto" nella guerra dei Balcani avesse determinato una contaminazione della rete trofica marina. I livelli di U riscontrati nel presente studio in tutte le specie ittiche analizzate risultano essere nettamente più bassi di quanto riportato nel lavoro sopra citato; essi appaiono peraltro in linea con un rapporto dell'US DHHS (1999) dal quale si evince un *range* medio di concentrazioni nel pesce a uso alimentare pari a 430–850 pg/g *fw* con un valore massimo di 11000 pg/g *fw*. Le differenze tra i dati del presente studio e quelli di Bettinelli et al. (2004) potrebbero essere giustificate da vari fattori tra cui la distanza tra le aree di campionamento — quella utilizzata in questo studio presumibilmente lontana da eventuali impatti di materiali bellico — o anche un eventuale effetto di diluizione dovuto al tempo trascorso dalla presunta immissione nell'ambiente Adriatico di materiale bellico contenente U "depleto". Alcune valutazioni di interesse ai fini dell'interpretazione dei dati del presente studio sono state riportate da Skwarzec (1999), che ha stimato i livelli di Pu e U in acqua, sedimenti, e pesci del Mar Baltico meridionale. In questo lavoro si riporta che il  $^{239}\text{Pu}$  va incontro a bioconcentrazione nei pesci con BCF indicativamente pari a 900, mentre il  $^{238}\text{U}$  in sostanza non bioconcentra (BCF = 1.3). I pochi valori sulla presenza di U in prodotti naturali riportati dall'EFSA per la classe di alimenti *fish and seafood* sono inferiori a 1000 pg/g *fw* (EFSA, 2009b). Nel presente studio, i *range* di valori di  $^{239}\text{Pu}$ ,  $^{232}\text{Th}$ , e  $^{238}\text{U}$  non sembrano evidenziare particolari andamenti. Il livello più elevato di  $^{238}\text{U}$  (1600 pg/g *fw*) risulta essere meno del doppio dei livelli medi *upper bound* citati dall'EFSA mentre tutti gli altri sembrano essere in quell'ambito. Il  $^{232}\text{Th}$  presenta le stesse caratteristiche di distribuzione con livelli più elevati (3.39 ng/g *fw*) ma non essendoci stime in letteratura non è possibile effettuare comparazioni. Lo stesso può essere affermato per il  $^{239}\text{Pu}$ , ovunque molto basso e probabilmente prossimo ai livelli di fondo (Clulow et al., 1998).

## QUALITÀ DEL PRODOTTO ITTICO PESCATO

106. La Tabella IV.16 riporta il profilo in acidi grassi e le principali caratteristiche nutrizionali del prodotto ittico pescato in relazione all'area geografica di cattura. Nonostante l'ampia variabilità rilevata all'interno di ogni lotto, indipendentemente dalla specie considerata, non sono state riscontrate differenze significative dal punto di vista statistico fra le tre aree di pesca, come confermato dalla Figura

IV.20 che vede aggregati tutti i campioni pescati in ognuna delle tre aree geografiche, in relazione al contenuto lipidico.

107. Sulla base del tenore lipidico (Murdock, 2002), tutte le specie analizzate sono risultate appartenenti alla categoria dei pesci magri (<3 %) o semigrassi (3–8 %). Degno di nota è il bassissimo contenuto in grassi del nasello, quasi sempre al di sotto dell'1 %, così come quello dei crostacei, gambero mediterraneo, e scampo, seppur quest'ultimo sia stato catturato esclusivamente nel basso Adriatico. Fa eccezione la triglia di fango del basso Adriatico che, in occasione del secondo campionamento, ha presentato un tenore medio superiore al 10 %.

108. Anche nel caso di palamita, sardina, suro, sgombero, tombarello, tonno rosso, e pesce spada, specie generalmente ascritte alla categoria dei pesci grassi, si è riscontrato un livello di lipidi sempre inferiore al 5 % — senza marcate differenze fra le tre aree geografiche — con l'eccezione della sardina pescata nel mare Ionio che nel corso del primo campionamento ha evidenziato un tasso medio di lipidi intorno al 7 %.

109. Per quanto riguarda la composizione acidica, tutti i pesci hanno evidenziato un eccellente contenuto in acidi grassi polinsaturi della serie n3 ed in particolare del DHA (C22:6 n3). Nel caso del nasello pescato nel basso Adriatico (MO C3) e nel Tirreno (BC C3), il DHA rappresentava il principale acido grasso con il 34.6 % e il 36.5 % rispettivamente del totale degli acidi grassi tenore significativamente più elevato di quello riscontrato nel nasello pescato nel mar Ionio (PP C7, 24.7 %). La componente polinsatura era dovuta anche all'EPA (C20:5 n3), mediamente intorno al 6–7 % con proporzioni sempre superiori al 10 % nei crostacei e massime (15 %) nello scampo.

110. L'apporto di acidi grassi della serie n6 è invece risultato molto basso; conseguentemente il rapporto n6/n3 è apparso estremamente modesto, essendo compreso tra 0.18 e 0.20.

111. Occorre precisare che le comparazioni interspecifiche, relative ai risultati delle analisi condotte sulle specie catturate nelle tre aree di pesca, sono state eseguite senza considerare l'effetto peso dei pesci catturati nei diversi mari. In tal modo, si è cercato di far emergere eventuali differenze ascrivibili esclusivamente al sito poiché è ben noto che la taglia e l'età del pesce influenzano le caratteristiche qualitative delle carni. Al contrario, pochi studi hanno preso in esame la composizione e le proprietà nutrizionali del pesce proveniente da diverse aree geografiche.

112. A livello internazionale, numerosi studi hanno riferito delle elevate variazioni di lipidi e di composizione in acidi grassi della carne in specie ittiche pescate in

relazione a diversi fattori tra cui la stagione di cattura (Osman et al., 2001; Zlatanov & Laskaridis, 2007; Celik, 2008), le abitudini alimentari (Campo et al., 2006), la maturità sessuale (Zaboukas et al., 2006), e le loro interazioni. In alcune specie, è stato riscontrato un tenore lipidico molto ampio (da 0.5 a 20 g per 100 g di carne) in relazione all'epoca stagionale, alle disponibilità alimentari, e alla temperatura delle acque (Tortonese, 1970; Nunes et al., 1991; Milazzo et al., 1992; Bandarra et al., 1997).

113. Nel presente lavoro, le specie catturate evidenziavano una taglia alquanto variabile e ciò ha senz'altro contribuito a limitare l'effetto dell'area geografica (Tabella IV.17). Nel caso della triglia, comparando gli esemplari di peso compreso tra 85 e 105 g, catturati nelle tre aree, è emerso che i soggetti catturati nel sud Adriatico, presentavano un tenore lipidico significativamente più elevato rispetto a quelli pescati nei mari Ionio e Tirreno. Tali dati concordano con quelli riportati da Tornaritis et al. (1993) che, analizzando gli acidi grassi di otto specie di pesci del Mediterraneo tra cui la triglia (*Mullus barbatus*), ha accertato in tale specie un contenuto lipidico pari al 7.0 %. Le triglie catturate in Tirreno, inoltre, avevano evidenziato una percentuale molto elevata di n3 PUFA (principalmente DHA) e bassa di acido oleico (C18:1) rispetto ai pesci catturati in altri settori. Questa diversa composizione è dovuta al comportamento bentonico della specie, le cui abitudini alimentari si basano prevalentemente su crostacei ricchi di DHA. La fonte di cibo principale di triglie pescate su substrato sabbioso è rappresentata da vermi (*Polychaeta*) che sono ricchi di acidi grassi monoinsaturi e di EPA, ma hanno un basso contenuto di DHA (Bischoff et al., 2009). L'Osservatorio Nazionale della Pesca (2010) ha riportato che triglie catturate su fondali sabbiosi avevano un contenuto di lipidi di 6.6 g per 100 g di carne, una percentuale di acido oleico del 27 %, e una percentuale di EPA+DHA intorno al 12 %. Questi dati sono molto simili a quelli osservati nei pesci da noi catturati nell'Adriatico meridionale, caratterizzato da un substrato morbido e fangoso, e confermano l'ipotesi degli effetti dell'ambiente e degli organismi acquatici che vi risiedono.

## **QUALITÀ DEL PRODOTTO ITTICO ALLEVATO E DELLE CONDIZIONI DI BENESSERE**

114. Per quanto riguarda le caratteristiche nutrizionali delle carni di branzini e orate provenienti dagli allevamenti *offshore* presi in esame, il tenore lipidico si è attestato mediamente su 3.47 % e 3.85 % rispettivamente (Tabella IV.18).

115. Relativamente al profilo acidico, la frazione monoinsatura è risultata la più rappresentata per la prevalenza dell'acido oleico (C18:1) sia nel branzino (20–22 % degli acidi grassi) che nell'orata (oltre il 30 %), seguita dalla frazione satura con il palmitico (C16:0) (16–17 %) e da quella polinsatura della serie n3 (24–25 %)

con il DHA intorno al 12 %. Queste caratteristiche sono state rilevate sul prodotto ittico di tutti e tre gli impianti monitorati, senza differenze statisticamente significative.

116. Le Figure IV.21 e IV.22 pongono a confronto il tenore di DHA e il rapporto di acidi grassi n6/n3 tra il prodotto pescato e quello allevato nelle tre aree geografiche monitorate.

117. Le analisi condotte hanno confermato l'importanza dell'alimentazione, e in particolare dell'origine delle fonti lipidiche impiegate nei mangimi, sulla composizione lipidica e acidica dei pesci d'allevamento perché, se di origine vegetale (es. olio di soia), aumentano l'apporto di acidi grassi della serie n6 e in particolare di acido linoleico (C18:2 n6) a scapito della serie n3 (DHA, EPA) di cui, invece, sono ricche le materie prime di origine acquatica (oli di pesce, alghe disidratate, etc.).

118. Per quanto riguarda lo stato di benessere (Tabella IV.19) dei pesci allevati nei tre impianti *offshore*, i parametri ematochimici presi in considerazione non hanno evidenziato situazioni critiche per i soggetti allevati in gabbia. Si ricorda che il campionamento ha avuto luogo a fine ciclo di ingrasso, in prossimità della raccolta, quando nelle gabbie la densità unitaria era prossima a quella massima prevista dal Capitolato di Produzione Coop (15 kg/m<sup>3</sup>).

119. Dal punto di vista dei parametri biomorfometrici (Tabella IV.20), tutti i pesci presentavano una pezzatura media compresa approssimativamente tra 350 e 500 g. I rilievi condotti hanno messo in evidenza come l'accrescimento peso-lunghezza sia avvenuto in modo regolare. L'incidenza del grasso viscerosomatico è sempre risultata contenuta a riprova di un prodotto ittico di buona qualità. L'indice epatosomatico è apparso rispondente a quello proprio di pesci in buono stato nutrizionale.

120. Si ricorda che i pesci analizzati erano prodotti nel rispetto del capitolato che le tre aziende prese in considerazione avevano sottoscritto con COOP. Il capitolato imponeva la somministrazione di alimento con un tenore lipidico  $\leq 18$  % sul tal quale, a una razione non superiore al 2 % al giorno in relazione alla temperatura delle acque e al peso vivo.

## QUALITÀ DEL PRODOTTO ITTICO D'IMPORTAZIONE

121. Le analisi sulle caratteristiche nutrizionali dei prodotti importati, quali gambero dell'Ecuador (*Penaeus vannamei*), persico africano del Lago Vittoria (*Lates niloticus*), e pangasio proveniente dal Vietnam (*Pangasius hypophthalmus*),

hanno potuto evidenziare un tenore lipidico molto basso (<3 %) in tutti e tre i lotti esaminati (Tabella IV.21).

122. Nel caso del pangasio (EPV), si è osservata una differenza marcata nel profilo in acidi grassi rispetto al prodotto pescato e a quello allevato sul territorio nazionale. Gli elementi caratterizzanti erano dati dalle elevate percentuali di acidi grassi monoinsaturi (42.6 % degli acidi grassi totali), rappresentati pressoché esclusivamente dall'acido oleico (39.3 %) e saturi, dovuti in prevalenza all'acido palmitico (27.2 %), e dall'esigua presenza di acidi grassi della serie n3 (<3 %). La concentrazione complessiva di EPA e DHA è risultata inferiore all'1.5 % del totale degli acidi grassi e pertanto il rapporto tra la serie n6 e n3 ha raggiunto il valore medio di 4.92.

123. Nel caso del persico africano (EPA), il livello di lipidi è risultato molto basso (ca. 0.6 % sul tal quale) a fronte di un buon apporto di acidi grassi della serie n3 (25 % degli acidi grassi totali), tra cui DHA (14.5 %), DPA (4.95 %), ed EPA (3.91 %). La frazione di acidi grassi della serie n6 è apparsa abbastanza limitata (8.51 %) e tale da contenere il rapporto di acidi grassi della serie n6 e n3 su 0.34.

124. Nel caso del gambero (EGE), il profilo acidico era caratterizzato dalla prevalenza della frazione polinsatura (>41 % del totale degli acidi grassi), sia della serie n3 (24.4 %) che n6 (16.3 %), seguiti dalla frazione satura (34.6 %) per l'elevata percentuale di acido palmitico (19.8 %). Il rapporto n6/n3 è risultato pari a 0.67.

## VARIABILITÀ INTERSITO

125. Le Figure IV.23–40 riportano per ogni sostanza chimica il panorama dei risultati ottenuti per specie e per area studiata. Nei grafici sono inclusi anche i risultati relativi ai pesci allevati. Considerando che tra gli obiettivi principali del Progetto c'era quello di individuare eventuali sorgenti di contaminazione area-specifica nel mare Mediterraneo, ai fini della valutazione della variabilità intersito non sono stati ovviamente considerati i dati dei pesci d'importazione. La variabilità tra campagne talvolta risulta essere molto elevata ma la scarsa numerosità campionaria non consente di identificare con certezza le ragioni di tale fenomeno. Una possibile interpretazione verrà fornita nella discussione (cfr. 131).

126. Con l'analisi discriminante sono stati presi in considerazione le sostanze con distribuzione log-normale (PBDE, PCDD+PCDF, DL-PCB, NDL-PCB, Hg totale, As, Cr, Ni, Sn, e V). Nella Tabella IV.22 sono rappresentati i risultati di questa analisi. In tutti i gruppi analizzati, i valori di autovettore della prima funzione sono sempre superiori alla seconda suggerendo una maggior importanza della prima funzione

nella spiegazione potenziale delle differenze fra i gruppi rispetto alla seconda (denotata anche dalla quantità percentuale di varianza trattata). A livello generale, però, entrambe le funzioni non discriminano tra i gruppi e, infatti, i valori di autovettore risultano tutti molto bassi. Il parametro *Wilks lambda* indica la quantità residua di potere discriminante nelle variabili: valori prossimi allo zero indicherebbero un alto potere discriminante. I valori determinati per le sostanze prese in considerazione non risultano inferiori 0.926, confermando quanto già indicato dai valori di autovettore. I valori di *Chi-quadro* sono tutti molto bassi, indicando che nessuna delle due funzioni è in grado di distinguere tra i gruppi. E il valore di P indica chiaramente una non-significatività delle funzioni discriminanti (la discriminazione sarebbe significativa per  $P \leq 0.05$ ).

127. Per quanto riguarda l'impiego delle reti neurali alle sostanze con caratteristiche non log-normali (*distribution-free*), sembra importante spiegare la rappresentazione grafica indicata in Tabella IV.23 in cui possono essere distinti quattro livelli. Il livello dell'*input* (ingresso) fornisce l'informazione da parte delle variabili (le concentrazioni delle sostanze chimiche i cui valori sono standardizzati sottraendo la media e dividendo per la deviazione standard) ai neuroni nel livello *pattern* (modello). Questo rielabora l'informazione attraverso una funzione di attivazione che usa i valori di *input* per stimare la probabilità della funzione di densità per ogni gruppo a un dato punto. Le stime di densità sono poi passate al livello *summation* (riassunto) che combina l'informazione dal numero di campioni con le precedenti probabilità e i costi di non classificazione per derivare un punteggio per ogni gruppo. Questo punteggio viene poi usato per stimolare il neurone binario nel livello di *output* (uscita) corrispondente al gruppo con il punteggio più elevato e disattivare tutti gli altri neuroni di *output*.

128. Il risultato di tali operazioni è mostrato nella tabella sopra citata dove sembra difficile classificare univocamente i campioni raccolti da un sito. Quindi, il potenziale predittivo, cioè la possibilità di assegnare un campione dalle origini sconosciute a una delle tre aree appare affetta da una incertezza superiore al 50 %. Appare chiaro, quindi, quello che è stato osservato per l'analisi discriminante e cioè che le aree di campionamento non mostrano delle caratteristiche nette che consentano di classificarle differenzialmente (Fielding, 2007).

## ELEMENTI DI VARIABILITÀ SPECIE-SPECIFICA

129. La variabilità specie-specifica può tenere conto delle differenze osservabili tra le distribuzioni di frequenza dei dati e tra le aree campionate (anche in questo caso, i dati relativi al prodotto ittico d'importazione non sono stati considerati, cfr. 125). Nell'ambito dei contaminanti organici la palamita è quella che presenta i livelli di contaminazione più elevati per PBDE (Figura IV.41), PCDD+PCDF (Figura

IV.42), DL-PCB (Figura IV.43), PCDD+PCDF+DL-PCB (Figura IV.44), e NDL-PCB (Figura IV.45). Ciò potrebbe dipendere da numerosi fattori come la posizione trofica, le abitudini alimentari e, in parte, anche il luogo di campionamento perché il *range* di contaminazione mostrato è molto ampio. Il ruolo delle risorse alimentari sembra essere rilevante. In prima approssimazione, infatti, dalla disamina dei due dendrogrammi (quello relativo a PCDD+PCDF e a DL-PCB) la tipologia della risorsa alimentare sembra guidare la clusterizzazione (Figura IV.46, Figura IV.47): i pesci allevati risultano separati da quelli selvatici in entrambi i casi.

130. Nella definizione del *set* di dati da sottoporre a *Cluster Analysis* per le due classi di sostanze prese in considerazione un aspetto metodologico merita un'accurata considerazione: la riduzione dell'impatto dei valori "non determinabili" (<LD o nd) sulla capacità diagnostica dell'approccio statistico. Tali dati, infatti, posseggono un limitato potere diagnostico. Per entrambi i gruppi di contaminanti è stato necessario procedere mediante eliminazione selettiva di congeneri con un tasso elevato di nd. Nel caso di PCDD e PCDF, ad eccezione di tre congeneri appartenenti al gruppo dei PCDF per i quali il numero di dati "non determinabili" risultava inferiore al 15 %, tutti gli altri congeneri presentavano frequenze di nd comprese tra il 28 e il 40 % e sono stati eliminati. Infatti, l'utilizzo di variabili con frequenze così elevate di dati nd avrebbe comportato l'introduzione di un elevato tasso di valori uguali nell'algoritmo di calcolo — in modo dissimile da quanto accade per i tre congeneri dei PCDF — e conseguentemente avrebbe influenzato il potenziale diagnostico dell'analisi distorcendo il risultato finale. Per i DL-PCB l'eliminazione è stata meno critica in quanto la maggior parte dei valori risultava determinata. In una seconda fase, si è proceduto all'eliminazione dei campioni caratterizzati da un numero di "non determinabili" superiori al 50 %. Ciò ha comportato, relativamente al gruppo di PCDD e PCDF, l'eliminazione dei campioni PP B7, BC B3, BC C1, EPA, e EPV. Relativamente al gruppo dei DL-PCB non è stato necessario procedere all'eliminazione di alcun campione.

131. Nel caso di PCDD e PCDF, sembrerebbe probabile che il processo di clusterizzazione venisse guidato almeno in parte dalla specie-specificità di accumulo. Leggendo il grafico in Figura IV.46 dal basso verso l'alto, a una distanza di 60, si osservano tre *cluster* maggiori. Il primo dei tre appare molto ramificato e ulteriormente suddiviso in almeno tre sottogruppi. Quattro delle sei palamite si trovano nel primo sottogruppo con un tombarello. Il secondo sottogruppo è molto eterogeneo e include tanto pesci predatori come tonno, tombarello, e le altre due palamite quanto pesci preda come alici, suro, e triglie. Questa eterogeneità potrebbe essere dovuta alle relazioni trofiche tra i vari pesci costituenti il *cluster*, anche se la scarsità di dati non consente di fare affermazioni più accurate. Come già osservato precedentemente, il secondo *cluster* è rappresentato da tutti i pesci di allevamento con divisioni in sottogruppi

apparentemente non correlabili alla localizzazione degli allevamenti. Ciò suggerisce che i congeneri presi in considerazione siano piuttosto comuni tra i mangimi adottati. L'ultimo *cluster*, sebbene eterogeneo, sembra confermare quanto già osservato a proposito dell'azione specie-specifica e delle relazioni trofiche nella formazione del *cluster*. Infatti, tutti i naselli sono in questo gruppo così come i gamberi a cui si aggiungono parte delle alici e delle triglie, già presenti nel primo *cluster*. Le relazioni trofiche tra naselli e gamberi sono ben note (www.FAO.org) ma l'aggregazione con alici e triglie potrebbe fornire ulteriori informazioni forse correlabili ad ambienti in cui l'influenza del fondo marino risulta più marcata. Infatti, in questo *cluster*, oltre a naselli e gamberi, anche la triglia ha relazioni trofiche con il benthos. Inoltre, a ridotte profondità il sedimento può influenzare il trasferimento della contaminazione alla colonna d'acqua soprastante (Miniero et al., 2011), e l'alice, organismo pelagico costiero, appare in questo *cluster* presumibilmente per questo motivo. Infine, a una distanza di circa 75 i *cluster* 1 e 2 sembrano essere legati suggerendo che a bassi livelli di esposizione i principali costituenti dei profili (cfr. 130) siano in qualche maniera sovrapponibili. La risoluzione dei *cluster* 1 e 3 può senz'altro aumentare adottando tecniche statistiche divisive quale la *Cluster Analysis* del tipo *K-means* (Fielding, 2007). La variabilità tra campagne di campionamento tra stesse specie nell'ambito dello stesso sito di campionamento può essere dovuto a cambiamenti nella disponibilità delle risorse alimentari, eventualmente alla base, per una stessa specie, della variabilità all'interno dello stesso *cluster*. Infatti, un profilo analitico condiviso potrebbe essere il risultato della posizione trofica ma le differenze relative potrebbero dipendere da risorse alimentari diversificate (identificabili con organismi con differente carico inquinante corporeo) che, a loro volta, influenzerebbero il carico corporeo del predatore (cfr. 135–136).

132. In generale la situazione presentata dai DL-PCB per ciò che concerne le differenze tra pesce selvatico e pesce allevato sembra riflettere quanto osservato per PCDD e PCDF. Tuttavia, la specie-specificità sembra essere meno caratterizzata con due *cluster* principali e non tre come osservato per PCDD e PCDF. Infatti nel primo *cluster* sono inclusi tanto pesci pelagici, come palamite e tonni, quanto nectobentonici, come i naselli, ovvero comprendendo sia pesci predatori che pesci preda come le alici. Il primo sottogruppo del primo *cluster*, a ogni modo, è sempre caratterizzato dalle palamite (Figura IV.47). Il secondo *cluster* risulta complessivamente piuttosto composito perché include tanto pesci allevati quanto pesci selvatici. Sembra inoltre mostrare una composizione già osservata per PCDD e PCDF in quanto tra i pesci selvatici non include i pesci pelagici (a esclusione di un campione di tombarello). In particolare, in questo *cluster* i pesci allevati sono distribuiti esclusivamente nel primo sottogruppo. La distanza di separazione con gli altri selvatici di questo *cluster* sembra essere inferiore a quello mostrato da PCDD e PCDF (Figura IV.46). I mangimi, quindi, fornirebbero un contributo al carico corporeo, in termini di profilo di DL-PCB, che

sembra essere meno differenziato rispetto a quello di PCDD e PCDF. Tra i pesci selvatici, i dati relativi alle alici sono in grande prevalenza aggregati nel secondo sottogruppo, con profili evidentemente più marcatamente specie-specifici. In conclusione, si può affermare che, nonostante la scarsa numerosità campionaria, esistono evidenti differenze tra pesce selvatico e allevato. Queste sono attribuibili con ragionevole certezza alle differenze tra i profili trasferiti nell'ambito delle catene alimentari selvatiche e quelle dovute ai mangimi. All'interno dei selvatici, la clusterizzazione non completa dei pesci pelagici rispetto a quella degli organismi che hanno più relazioni con il fondo marino suggerirebbe l'esistenza di differenze tra le catene alimentari pelagiche e quelle bentoniche anche se ulteriori studi più dedicati, con approcci statistici ibridi (Fielding, 2007), potrebbero chiarire meglio questo aspetto. Infine, palamita, alice e nasello, molto spesso mantenuti disaggregati, sembrano essere buoni organismi indicatori.

133. I pesticidi monitorati (Figure IV.48–50) risultano consistentemente più elevati nel tombarello, che presenta anche valori tra i più elevati di PBDE. Infatti, rispetto alla palamita, il tombarello risulta essere il secondo in ordine di importanza come *body burden* per alcuni contaminanti organici, caratteristica questa presumibilmente correlata alle dimensioni degli esemplari analizzati. Questo aspetto è stato analizzato più in dettaglio nel pesce selvatico studiando la relazione esistente tra i *body burden* di NDL-PCB e MeHg, scelti come contaminanti-modello, con lunghezza e peso (Tabella IV.17). Come si evince dalle Figure IV.51–54, per entrambi questi contaminanti si osserva un incremento di concentrazione proporzionale alle dimensioni degli esemplari monitorati (Miniero & Iamiceli, 2008). In questo studio, le maggiori dimensioni sono quelle dei predatori per cui il fenomeno della biomagnificazione può essere preso in considerazione per giustificare i livelli raggiunti, anche se altri fattori come le differenze metaboliche possono significativamente incidere sui livelli riscontrati (Moriarty, 1999). Le relazioni mostrate nelle Figure IV.51–54 sono solo indicative in quanto i valori di  $r^2$  (40 % o inferiore) appaiono essere piuttosto bassi e ciò probabilmente a causa di fattori che influenzano la dispersione dei dati tra cui la variabilità interspecifica, la variabilità intraspecifica (stadio d'accrescimento), e la variabilità intersito.

134. Nello studio di regressione sopra illustrato non sono stati presi in considerazione gli esemplari di tonno (*Thunnus thynnus* L.) e pesce spada (*Xiphias gladius* L.) per mancanza di dati sulla lunghezza. Non è stato utilizzato il loro peso poiché avrebbe distorto la comparabilità interspecifica dei due parametri morfometrici adottati per analizzare le suddette relazioni. D'altro canto, nonostante tonno e pesce spada occupino i vertici delle reti alimentari mediterranee, i livelli di contaminazione di tali pesci sono risultati in questo studio più bassi o comparabili con quelli trovati nelle palamite e nei tombarelli. Pertanto, anche in considerazione della loro notevole importanza commerciale, è apparso necessario interpretare questo aspetto. Nei paragrafi che seguono sono riportati

alcuni elementi interpretativi in termini di ambienti di vita, stadio d'accrescimento, e abitudini alimentari, che supportano almeno in parte le affermazioni fin qui sostenute.

135. In relazione agli ambienti di vita, la palamita è un pesce primariamente neritico, il tombarello frequenta ambienti neritici e oceanici, il tonno rosso e il pesce spada sono principalmente oceanici. Questi ultimi nella fase giovanile sono in grande prevalenza epipelagici, ma il tonno rosso durante la fase adulta diventa mesopelagico, mentre il pesce spada frequenta entrambi gli ambienti. La palamita e il tombarello sono durante tutta il ciclo vitale epipelagici. In conseguenza, principalmente la palamita sembra essere più esposta ad ambienti dove l'influenza antropogenica è più marcata. In termini di tipologia di foraggiamento la palamita viene definita "opportunista" e le maggiori differenze nell'alimentazione si riscontrano a livello di stadio di vita (larva, giovanile, e adulto). In considerazione degli ambienti costieri in cui la palamita vive, in uno specifico periodo di tempo le risorse alimentari disponibili potrebbero essere costituite da un ridottissimo numero di specie (Majkowsky, 2007). Questo fattore potrebbe risultare in un'esposizione selettiva e area-specifica ai contaminanti in uno specifico contesto spazio-temporale. Su questa base è possibile interpretare i *range* di *body burden* osservati in questo gruppo di pesci e le differenze osservate con tonno e pesce spada (Figure IV-26 e IV-44). Ulteriormente, in termini di dimensioni, la palamita e il tombarello hanno dei *range* di taglie comuni di 30–50 cm e 15–35 cm rispettivamente, mentre il tonno rosso e il pesce spada di 80–200 cm e 115–190 cm (come lunghezza del corpo, senza inclusione del rostro). I pesi massimi raggiungibili sono per la palamita 7.5 kg, per il tonno 600 kg, e per il pesce spada 540 kg. La maturità sessuale, che sottende il raggiungimento del periodo adulto, nella palamita viene raggiunta a ca. 40 cm di lunghezza, nel tonnarello a 35 cm, nel tonno rosso tra 30 e 120 kg e 115–190 cm di lunghezza (4–8 anni), e nel pesce spada a 150–160 cm (3.5 anni) (Majkowsky, 2007).

136. Prendendo in considerazione queste dimensioni, e comparandole con quelle in Tabella IV.17, si può osservare che la palamita e il tombarello si trovano certamente nella fase adulta mentre il tonno e forse il pesce spada potrebbero trovarsi in una fase più giovanile del ciclo vitale. Infatti, in condizioni di vita selvatiche le dimensioni sono senz'altro funzione dell'età dell'individuo (Hill et al., 2004). Ciò fornisce delle indicazioni sul tipo di alimentazione e, conseguentemente, sulla posizione trofica. In virtù della presunta giovane età, il tonno e il pesce spada potrebbero anche non essere ai vertici della rete alimentare (Majkowsky, 2007), con conseguente influenza sul *body burden* dei contaminanti. In conclusione, quindi, sulla base delle considerazioni sopra riportate, sembra ragionevole supporre che i livelli più elevati di contaminanti organici riscontrati in palamita e tombarello, rispetto a quanto atteso (tonno) possano essere dovuti all'età e alla posizione trofica.

137. In generale, per tutti i contaminanti organici il potenziale di bioaccumulo/biomagnificazione è funzione del  $K_{OW}$  delle sostanze prese in considerazione (Moriarty, 1999). Come risulta dalle Figure IV.53 e IV.54, il MeHg sembra comportarsi come i contaminanti organici ma il fattore che guida l'accumulo e la biomagnificazione non è il  $K_{OW}$  ma l'interazione dello ione  $CH_3Hg^+$  con la cisteina. Tale interazione forma il complesso MeHg-cisteina, coinvolto nel trasporto del MeHg nella cellula (NRC, 2000). Infatti, contrariamente ai contaminanti organici le concentrazioni più elevate si trovano in tessuti non ricchi di grasso (Mason et al., 1995). Conseguentemente i fattori di bioaccumulo (BAF) per questa sostanza sono molto elevati.

138. Tra i contaminanti emergenti, il PFOS (Figura IV.55) mostra un comportamento analogo a quello di alcuni metalli: infatti, è chiarissima la tendenza al bioaccumulo specie-specifico. L'alice, in particolare, sembra essere la specie più indicatrice di tale contaminazione: questa specie vive nella colonna d'acqua sottocosta — dove è maggiore l'impatto antropogenico — e si ciba principalmente di cibo particolato ([www.FAO.org](http://www.FAO.org)).

139. In genere, per quanto concerne i metalli non viene osservato lo stesso fenomeno precedentemente descritto, cioè un aumento di dimensioni in linea di massima non suggerisce un incremento di *body burden*. Questo aspetto è già stato riportato da altri autori (Canli & Atli, 2003). L'accumulo di metalli sembra essere funzione più della specie o genere di appartenenza, o dell'ambiente di vita, che della posizione trofica e/o delle dimensioni (Figure IV.56–65). Per la valutazione specie-specifica della distribuzione dei metalli è stata adottata la *Factor Analysis*. Nella Tabella IV.24 sono stati riportati i *factor loading* con le rispettive percentuali di varianza e in Tabella IV.25 i *factor score* dei campioni. La tabella dei *factor score* consente di verificare l'ipotesi sopra avanzata. I *factor loading* suddividono le variabili (i metalli) associate nell'identificare uno specifico fattore che influenza il raggruppamento dei campioni, mentre i *factor score* tengono conto delle relazioni dei singoli campioni con quello o quei fattori. La soglia che è stata adottata per la discussione dei *factor loading* e i *factor score* è in entrambi i casi 0.3 (Fielding, 2007). Prendendo in considerazione i *factor loading*, l'alice è caratterizzata principalmente dal Fattore 1 (As, Cd, Cu, V), così come la maggior parte dei crostacei analizzati, incluso il gambero dell'Equador. Il nasello, la palamita, il pesce spada, il suro, e il tonno sono caratterizzati principalmente dal Fattore 2 (Cr, Pb). Il Fattore 3 (Hg totale) sembra caratterizzare tutte le specie campionate ma univocamente solo i crostacei. I maggiori *score* per questa sostanza chimica riguardano il tombarello, la triglia, lo scampo, il pangasio, e la palamita (in ordine decrescente di valore assoluto). Il Fattore 4, costituito da Ni e Sn, riguarda principalmente la palamita e il tombarello.

140. La discussione sul significato di queste associazioni negli organismi acquatici appare complicata dal fatto che nella letteratura scientifica i lavori pertinenti risultano essere molto scarsi. Inoltre, si deve tener presente che la presenza di alcuni di questi elementi è legata anche al loro ruolo come nutrienti e come composizione minerale (Ozden, 2010). Infine, data la peculiarità della *Factor Analysis* (cfr. 072), i metalli che caratterizzano ogni fattore sono potenzialmente legati da un meccanismo sottostante comune (Fielding, 2007). La presenza di As nei crostacei detritivori può essere dovuto al loro contatto con il sedimento (Bou-Olayan et al., 1995), e può essere legata al Cu negli stessi organismi perché come già detto questo elemento si trova nella proteina di trasporto dell'ossigeno (Lei et al., 2008). Il fatto, inoltre, che questi due elementi siano legati al V potrebbe essere dovuto alle stesse ragioni addotte per giustificare la presenza di As, ovvero il contatto con la sorgente d'esposizione (Miramand et al., 1992). Infine, As, Cd, Cu, e V negli organismi sono legati alla produzione di metaboliti reattivi dell'ossigeno (Soares et al., 2008). Tale fattore sembra essere di particolare interesse per le alici a causa dei possibili effetti tossici (Soares et al., 2008). I *loading* più elevati nell'ambito del Fattore 2 riguardano Cr e Pb. Le specie che mostrano *score* positivi e che sono numericamente più abbondanti sono la palamita e il nasello. Con particolare riferimento alla palamita, questi due elementi, insieme a molti altri, possono essere dovuti alla composizione minerale degli organismi (Ozden, 2010) e non necessariamente a fattori espositivi peculiari di questa specie. La conferma di ciò potrebbe essere data dalla univocità degli *score* e dal loro segno positivo. Ad ogni modo, nell'ambito di fluttuazioni stagionali nella composizione minerale è possibile che tali elementi possano eccedere le pertinenti soglie regolatorie (Ozden, 2010). Questo sembra essere il caso di alcuni campioni di nasello del nostro panorama campionario. Perciò, lo studio della specie-specificità di accumulo dovrebbe essere preso in considerazione e approfondito per il suo significato ambientale e sanitario. Il Hg totale ha il *loading* più elevato del Fattore 3 e il nasello di Porto Palo ha lo *score* maggiore per questo fattore. Come detto in precedenza, questo elemento sembra caratterizzare tutte le specie campionate anche se, univocamente, solo i gamberi. Questa univocità può essere spiegata tenendo conto delle abitudini detritivore di questi organismi e della loro frequenza di contatto con il sedimento ([www.FAO.org](http://www.FAO.org)). La presenza di Hg totale in questi organismi è stata verificata numerose volte e l'accumulo preferenziale attraverso la via alimentare rispetto a quella branchiale è stata verificata nello scampo (Canli & Furness, 2010). In situazioni come quella mediterranea, in cui esistono depositi naturali di cinabro ubiquitari, la catena alimentare dipendente dal detrito potrebbe costituire il primo gradino per l'ingresso di tale elemento nella catena alimentare umana. Lo *score* più elevato riscontrato per il nasello, inoltre, potrebbe essere una indicazione relativa ai rapporti trofici tra questo pesce e l'alimentazione a base di piccoli e medi crostacei che in alcuni casi può costituire il 90 % del totale ([www.FAO.org](http://www.FAO.org)). Ni e Sn caratterizzano il Fattore 4 preso in considerazione a causa della prossimità del

valore di autovettore alla soglia di 1 (Tabella IV.24). Questo fattore tiene conto soltanto dell'11 % circa della varianza totale dell'insieme dei dati. In maniera consistente solo la palamita viene caratterizzata da questo fattore e, apparentemente, anche per questi elementi, così come per Cr e Pb, può essere presa in considerazione la composizione minerale delle carni di questi pesci (Ozden, 2010). Ovviamente, al momento non sembrano esserci studi indicanti una chiave interpretativa diversa.

## COMPOSIZIONE DEI MANGIMI

### COMPOSIZIONE CHIMICA

141. La composizione chimica dei mangimi per le specie allevate nel mare Mediterraneo riconosce ai fini del rischio di bioaccumulo di contaminanti tossici persistenti, i seguenti fattori di mitigazione:

- una percentuale lipidica, costituita fondamentalmente da olii di pesce, che non eccede il 20 %, rispetto al 40 % presente nelle formulazioni mangimistiche destinate a salmoni allevati
- l'origine e la provenienza delle materie prime da distretti geografici a ridotta pressione antropica (es. Sud America — area Oceano Pacifico) e da specie a ridotto bioaccumulo (pesce azzurro), ovvero, l'adozione di pratiche di filtrazione degli olii di pesce su carboni attivi, in grado di abbattere il carico di contaminazione (per le provenienze dal mare del Nord — Oceano Atlantico)
- le verifiche sia ufficiali che interne a cui i mangimi sono sottoposti al fine di valutare la conformità rispetto ai tenori massimi di contaminazione ammessi dalla legislazione mangimistica europea
- la somministrazione di tali mangimi per un periodo di tempo abbastanza limitato, fino al raggiungimento di una taglia commerciale di circa 400 g per esemplare.

142. Tali fattori di mitigazione trovano riscontro negli approfondimenti analitici effettuati sulle specie eurialine allevate in Italia, sia nell'ambito di questo studio, sia nell'ambito della letteratura scientifica. Eventuali fattori di rischio possono essere evidenziati per il futuro in un cambio delle pratiche zootecniche, quali:

- allevamento delle specie eurialine fino a taglie superiori ai 1000 g per esemplare
- utilizzo di scarti della macellazione da pesce allevato, compreso il fegato, nella produzione di olii e farine di pesce.

143. Sulla base della presenza contemporanea di uno o più fattori di rischio o mitigazione, è possibile definire il livello di rischio e conseguentemente selezionare in via prioritaria gli interventi di monitoraggio sulla qualità e livello di contaminazione del pesce allevato. In tale contesto, il profilo acidico e di contaminazione degli olii di pesce utilizzati in mangimistica può essere correlato con le specie ittiche utilizzate, in modo da risalire possibilmente anche alla loro geo-referenziazione. In tale ambito, infatti, è stato visto che gli olii di pesce a uso zootecnico provenienti dal sud Pacifico, sono generalmente caratterizzati dalla presenza apprezzabile di pesticidi organoclorurati, a testimoniare l'impatto che alcune attività agricole hanno ancora sulle risorse ambientali. Di contro, gli olii di pesce provenienti dal nord Atlantico, denotano livelli di contaminanti di natura antropico/industriale nettamente superiore. Adeguati approfondimenti possono essere effettuati consultando la seguente bibliografia: Hamilton et al. (2005), Bassompierre et al. (2007), Maule et al. (2007), Kawashima et al. (2009).

## ASPETTI NUTRIZIONALI

144. Relativamente alla qualità del prodotto allevato, l'importanza sempre maggiore che le fonti di lipidi nell'alimentazione per gli organismi acquatici stanno assumendo è dovuta al fatto che le carni dei prodotti ittici sono caratterizzate da un limitato apporto di grassi saturi e da un'elevata presenza di monoinsaturi e polinsaturi. Sulla base di ciò, il tenore lipidico dei prodotti ittici risulta generalmente in linea con le raccomandazioni avanzate dagli organismi ufficiali preposti alla prevenzione delle cardiopatie ischemiche e di altre patologie cronico-degenerative nell'uomo. La componente lipidica delle carni risente in maniera diretta della dieta e perciò essi sono i costituenti soggetti a maggiore variabilità nell'ambito della composizione percentuale grezza dei pesci. L'importanza dei lipidi è legata in particolare al fatto che alcuni acidi grassi svolgono ruolo benefico nella prevenzione di patologie cardiovascolari umane, altri invece hanno un ruolo sospetto. Infatti, la presenza di PUFA della serie n3, in particolare l'EPA e il DHA rappresentano preziosi componenti ad effetto benefico sulla salute umana oltre ad essere essenziali per i pesci.

145. Nel caso dei mangimi utilizzati per alimentare i pesci di allevamento, sulla base dei risultati ottenuti analizzando la composizione centesimale delle diete e delle carni dei pesci, è evidente che le materie prime di origine acquatica (farine e oli di pesce, alghe disidratate, etc.) sono state impiegate come fonte prevalente per apportare amminoacidi e acidi grassi essenziali, seppure a esse si siano affiancate quote importanti di materie prime di origine vegetale. Nel caso della farina di pesce, la sua sostituzione con ingredienti alternativi viene attualmente motivata con la necessità di ridurre il prelievo delle risorse marine ma anche per mitigare l'impatto ambientale delle acque reflue degli impianti di allevamento. Tale sostituzione, tuttavia, non può prescindere dalla necessità di dover correggere gli effetti negativi che tale alimentazione esercita sulla qualità del

prodotto in quanto, a tutt'oggi, è difficile operare in modo da mantenere pressoché inalterata la qualità del prodotto rinunciando totalmente o quasi all'impiego di farina di pesce. Le farine di pesce hanno storicamente rappresentato la principale fonte di proteine nei mangimi per pesci e in particolare per le specie eurialine, quali branzino e orata. Dal punto di vista dietetico-nutrizionale, infatti, le farine di pesce sono da considerarsi ingredienti proteici virtualmente ideali, caratterizzandosi per l'elevato titolo di proteina (>65 %) di alto valore biologico, grazie a livelli e profili equilibrati in amminoacidi essenziali e per elevate digeribilità dei nutrienti e dell'energia. Esse apportano, inoltre, elementi minerali, vitamine, e acidi grassi essenziali, e contengono sostanze stimolatrici dell'appetito.

146. La sostituzione di larghe quote di farine di pesce di buona qualità con ingredienti proteici vegetali non è agevole e sul lato nutrizionale presenta non poche problematiche. Si deve in primo luogo sottolineare che le fonti proteiche vegetali costituiscono una categoria molto eterogenea di alimenti semplici, le cui caratteristiche nutritive variano grandemente in relazione all'origine botanica e ai processi tecnologici utilizzati nella loro preparazione. I derivati proteici di origine vegetale presentano alcuni limiti che ne condizionano il valore nutritivo e quindi la capacità di sostituire quote importanti di farine di pesce nella dieta senza compromettere la *performance* e il benessere dei pesci allevati e l'elevato livello proteico nella dieta richiesto dalle specie ittiche carnivore limita la possibilità di impiego solo ad alcuni derivati caratterizzati da contenuti proteici non inferiori al 40 %.

147. Un secondo aspetto limitante è dato dal profilo amminoacidico delle proteine di origine vegetale che, sebbene in misura diversificata da ingrediente a ingrediente, si caratterizza per carenze più o meno accentuate e/o sbilanciamenti rispetto quello delle farine di pesce. Ciò richiama la necessità di conoscere i fabbisogni della specie ittica almeno per quegli amminoacidi essenziali i cui livelli presentano maggior criticità nelle fonti proteiche alternative. Questo spesso limita le possibilità di ottimizzare il rapporto tra proteine di pesce e quelle vegetali all'atto della formulazione di mangimi completi, che includono appunto quote significative di ingredienti proteici alternativi con riflessi negativi sulla *performance* di crescita e sul bilancio azotato del pesce, con minor contenimento dell'impatto ambientale in termini di azoto solubile rilasciato nell'ambiente. I derivati proteici vegetali presentano inoltre numerosi altri "punti deboli" che ne possono limitare non poco il valore nutritivo. A differenza delle farine di pesce, sono privi di sostanze stimolatrici dell'appetito ovvero possono contenere molecole ad azione repellente con riflessi negativi sull'ingestione e sulla *performance* di crescita se inclusi in quote rilevanti in mangimi completi.

148. È inoltre necessario considerare l'apporto di carboidrati non amidacei di alcune fonti proteiche vegetali ed in particolare delle farine di estrazione di soia che trovano già impiego nella formulazione di mangimi commerciali per branzino e per altri pesci carnivori. Elevati livelli di sostituzione della farina di pesce con tali ingredienti danno luogo a riduzioni della digeribilità della dieta con riflessi negativi sulle prestazioni zootecniche e un maggior rilascio di particellato solido e di nutrienti di origine fecale nelle acque reflue. Non si deve inoltre trascurare il loro apporto di fattori antinutrizionali, molecole naturali costitutive dei vegetali da cui originano i corrispondenti derivati proteici, che non sempre e non completamente vengono rimosse o inattivate dai processi tecnologici attuati nella produzione dei derivati proteici stessi. Estremamente limitate sono le conoscenze circa gli effetti di questi composti nelle specie marine ma, sulla base di quanto rilevato in altre specie ittiche (salmonidi), essi potrebbero esplicare effetti negativi sull'appetibilità, sulle prestazioni di crescita, sull'efficienza di conversione alimentare, sul benessere, e sullo stato di salute dei pesci.

149. L'impiego di oli vegetali comporta un aumento della percentuale di acido linoleico e una riduzione dell'EPA con conseguente incremento del rapporto n6/n3. Tale constatazione trova riscontro nel profilo acidico dei mangimi per pesci di mare da cui si evince un arricchimento in PUFA n6 a scapito dei PUFA n3 rispetto alle diete a base di farine e oli di pesce. L'acido linoleico, apportato con le materie prime di origine vegetale, pur andando ad aumentare la quota di acidi grassi polinsaturi, viene accumulato tal quale nei lipidi tissutali dei pesci di mare a causa della loro limitata capacità di elongare e denaturare la catena. Occorre comunque ribadire che il profilo in acidi grassi polinsaturi del pesce che ha assunto una determinata dieta nel corso del ciclo di ingrasso, pur riflettendo in buona parte il corrispondente apporto dietetico, dipende anche dalla capacità di trasformazione endogena degli acidi grassi precursori a derivati a lunga catena ed elevata insaturazione che è una caratteristica specie-specifica modulata dalla composizione in lipidi della dieta e dalle condizioni ambientali. Tale considerazione è da ritenersi valida specialmente per il branzino la cui dieta è strettamente carnivora, ma può essere riferita anche all'orata.

## **SITO "WEB"**

150. Nel piano generale del Progetto è stato previsto lo sviluppo di una piattaforma "web" che permetta la massima diffusione possibile delle attività e acquisizioni principali del Progetto, del suo stato di avanzamento, e dei risultati ottenuti. In questo ambito, il primo passo è stato quello di sviluppare un sito "web" composto da alcune sezioni dedicate alla descrizione degli obiettivi del Progetto, delle unità operative che vi afferiscono, dei microcontaminanti ambientali scelti per accertamenti nel prodotto ittico raccolto, e delle specie marine

d'interesse. Conoscenze approfondite sulle condizioni di vita di specie marine in condizioni di allevamento marino *offshore* consentono una migliore valutazione del prodotto ottenibile in queste condizioni, rispetto al prodotto selvatico, in base a obiettive considerazioni di valore nutrizionale.

151. Anche in funzione della diffusione di informazioni in occasione di seminari e convegni, le schede tossicologiche — dedicate alle varie specie chimiche come uno degli obiettivi del Progetto — sono a disposizione nel sito "web" per una loro lettura immediata, e parallelamente fornite in un formato scaricabile dalla rete. Similmente sono resi disponibili i protocolli analitici e le "schede merceologiche" come materiale sviluppato nell'ambito del Progetto, e la documentazione scientifica nazionale e internazionale d'interesse.

152. Il sito "web" dedicato al Progetto è operativo e accessibile da Giugno 2007 all'indirizzo <http://www.iss.it/fisr/>. All'interno del sito sono attualmente accessibili le sezioni elencate di seguito:

- "Obiettivo", contenente l'introduzione e la presentazione del Progetto
- "Chi siamo", contenente l'elenco delle unità operative che operano nell'ambito del Progetto e una descrizione dell'attività scientifica di ciascuna di esse
- "Progetto di Ricerca", contenente una descrizione dettagliata delle fasi in cui il Progetto è stato articolato e degli obiettivi specifici di ciascuna di esse
- "Linee di sviluppo", contenente informazioni relative ai risultati ottenuti nello svolgimento del Progetto, ovvero il presente Rapporto
- "Metodi analitici", contenente i protocolli analitici relativi alle sostanze d'interesse (Allegati 1–4)
- "Schede Tossicologiche", contenente le schede chimico-tossicologiche relative alle sostanze d'interesse (Allegati 5–7)
- "Schede sulla qualità del prodotto ittico allevato e pescato e sul benessere del pesce allevato", contenente le schede con le descrizioni biomorfometriche e i parametri di qualità delle specie ittiche considerate nell'ambito del Progetto (Allegato 8), e le schede relative ai parametri di benessere del pesce allevato (Allegato 9)
- "In rilievo", in cui verranno segnalate notizie e informazioni utili sullo sviluppo del progetto e sui risultati raggiunti
- "Eventi", contenente informazioni su congressi, seminari, e *workshop* di interesse per il Progetto fino al 2012
- "Pubblicazioni", contenente i lavori scientifici più recenti d'interesse per il Progetto
- "Link", contenente un elenco di siti "web" dove approfondire alcuni tra gli argomenti d'interesse per il Progetto.

## DIVULGAZIONE DEI RISULTATI

153. Il completamento delle attività di divulgazione scientifica e di formazione troverà compiutezza nella fase immediatamente successiva alla chiusura del Progetto. La rappresentatività dei dati finali ottenuti richiede, infatti, una valutazione approfondita e uno sforzo di scrittura per rendere facilmente fruibili e trasferibili i risultati ottenuti. Di seguito sono elencati i lavori scientifici finora pubblicati inerenti i risultati dello studio e gli eventi formativi svolti per il trasferimento della conoscenza acquisita agli operatori di settore.

### *Pubblicazioni scientifiche*

- Roncarati A., Sirri F., di Domenico A., Brambilla G., Iamiceli A.L., Melotti P., & Meluzzi A. (2010). Survey of qualitative traits of European sea bass cultivated in different rearing systems. *European Journal of Lipid Science and Technology* **112**, 770–779.
- Dellatte E., Abate V., Brambilla G., De Felip E., De Filippis S.P., De Luca S., Fulgenzi A.R., Iacovella N., Iamiceli A.L., Melotti P., Miniero R., Roncarati A., & di Domenico A. (2010). Levels and profiles of dioxin-like compounds in two fish species from Mediterranean sea. *Organohalogen Compounds* **72**, 1636–1639.
- Roncarati A., Brambilla G., Miniero R., Brizzi G., Cascone V., Mangiacotti M., Marchesani G., Miedico O., & Chiaravalle E. (2010). Methylmercury in feeds and in sea bream fillets under routine farming conditions. In *Proceedings of Aquaculture Europe 2009*. Trondheim (Norway), Agosto 15–17, 2010.
- Iamiceli A.L., Miniero R., Brambilla G., & De Felip E. (2009). Relationship between POP background levels in agricultural environments and target levels in foods: A challenge for risk reduction of priority pollutants. In *International Meeting on Health and Environment: Challenges for the Future, Abstract book*, p.153. Caciolli S., Gemma S., & Lucentini L., Eds. ISTISAN Congressi 09/C12, Istituto Superiore di Sanità (Roma). Dicembre 9–11, 2009.
- Miniero R., Brambilla G., Chiaravalle A.E., Brizzi G., Cascone V., Abate V., De Filippis S.P., Iamiceli A.L., Ingelido A.M., Fulgenzi A.R., Iacovella N., & di Domenico A. (2009). POPs levels in fillet of sea bream (*Sparus aurata*) from two offshore cages of southern Italy. *Organohalogen Compounds* **71**, 1506–1508.
- Brambilla G., Abate V., Davoli E., De Filippis S.P., De Luca S., Dellatte E., Fanelli R., Fattore E., Fochi I., Fulgenzi A.R., Iacovella N., Iamiceli A.L., Lucchetti D., Melotti P., Miniero R., Moret I., Pignata S., Roncarati A., Triboni P., Ubaldi A., Zambon S., & di Domenico A. (2009). Occurrence of persistent organic pollutants (POPs) in Italian wild and farmed fish in Mediterranean sea. *Organohalogen Compounds* **71**, 1070–1074.

*Eventi divulgativi formativi*

- Corso ECM ASL 4 Umbria, Terni: "Legislazione ambientale e legislazione alimentare a confronto: I requisiti ambientali ai fini della sicurezza alimentare". Terni, 6 giugno 2011.
- CORSO ECM ASL 4 Umbria, Terni: "Requisiti ambientali ai fini della sicurezza e dell'esposizione alimentare a sostanze tossiche persistenti." Terni, 26 Maggio 2011.
- Corso ECM ASL 4 Umbria, Terni: "Strategie di campionamento ed analisi: Dalla fase emergenza alla fase di monitoraggio". Terni, 5 Maggio 2011.
- Corso ECM AUSL Ravenna: "Prevenire la contaminazione da "diossine" negli alimenti destinati agli animali". Ravenna, 24 Maggio 2011.
- Corso ECM Regione Veneto, AULSS 22 Bussolengo: "Approfondimenti interdisciplinari per la salute collettiva". Bussolengo (VR), 5 Ottobre 2010.
- Università degli Studi di Milano, Facoltà di Medicina Veterinaria, Seminari di dottorato di ricerca in sicurezza alimentare: "A.A.A. ambiente-animali-alimentazione: La qualità dell'ambiente quale fattore di prevenzione nell'esposizione alimentare a contaminanti supertossici e persistenti". Milano, 5 Giugno 2009.
- Corso ECM ASL 2 Umbria, Perugia: "Contaminanti xenobiotici di interesse prioritario nelle filiere zootecniche: Aspetti di prevenzione e di valutazione dell'esposizione alimentare". Perugia, 10 Novembre 2009.
- Corso ECM Istituto Superiore di Sanità: "L'adattamento degli animali da reddito agli ambienti di allevamento". Roma, 3-4 Dicembre 2009.

## SEZIONE V — STIMA DELL'ESPOSIZIONE

154. Gli *intake* alimentari di PCDD, PCDF, DL-PCB, e MeHg nella popolazione generale Italiana adulta, relativamente al solo consumo di pesce e prodotti ittici, sono stati stimati utilizzando la metodologia che si basa sulla combinazione di dati di consumo alimentare e di contaminazione (WHO, 1985; Kroes et al., 2002). Riguardo all'aspetto quantitativo della valutazione dell'esposizione, è stato utilizzato il modello più generale chiamato "metodo delle stime puntuali" (o della modellizzazione deterministica) perché utilizza valori singoli, fissati per entrambe le variabili d'interesse: un valore fisso di consumo alimentare di una determinata componente (di solito il valor medio del consumo della popolazione generale o il  $Q_{.95}$  pertinente se si studia la popolazione degli alti esposti) viene moltiplicato per un valore fisso di concentrazione (generalmente, il valore medio o mediano) in quella componente ottenendo così una stima dell'*intake* relativo alla componente in studio. L'*intake* totale è dato dalla somma degli *intake* parziali.

155. La stima dell'esposizione è stata incentrata sulla sottopopolazione dei consumatori (*consumers only*) di pesce e prodotti ittici, di età compresa tra 18 e 64 anni (soggetti adulti). Le diverse specie che appartengono alla macrocategoria dei pesci e prodotti ittici sono caratterizzate da valori di contaminazione molto diversi tra loro e inoltre vengono consumate con frequenze diverse: affinché la stima dell'esposizione sia per quanto possibile rappresentativa della reale situazione della popolazione, l'analisi deve essere il più possibile dettagliata. Pertanto, la macrocategoria dei pesci e prodotti ittici è stata suddivisa in sottocategorie — pesce allevato, pesce azzurro, pesci predatori (tonno e simili), pesce spada, pesce persico, pangasio e altro, crostacei, e molluschi — ciascuna caratterizzata da un valore di contaminazione e di consumo.

156. I dati di contaminazione utilizzati per la stima dell'esposizione, per tutte le sottocategorie alimentari a eccezione dei molluschi (dati non disponibili da questo studio), derivano dalle distribuzioni di dati precedentemente descritte (cfr. 078–081 e 090–092) relative a campioni di pesce e di crostacei, di numerosità pari a 53 per PCDD, PCDF, e DL-PCB, e 55 per il MeHg. Per ogni sottocategoria, una o più specie di pesci sono state selezionate ottenendo un valore medio di contaminazione (pesato per la frequenza di campionamento) rappresentativo della sottocategoria, espresso in pgWHO-TE<sub>97</sub>/g *fw* per i TEQ<sub>TOT</sub> e in µg/g *fw* per il MeHg. Riguardo alla sottocategoria dei molluschi, i dati sono stati ricercati nella letteratura scientifica selezionando articoli relativi a campioni allevati o acquistati esclusivamente in paesi del bacino del mare Mediterraneo (Claisse et al., 2001;

Ipolyi et al., 2004; Kljaković-Gašpić et al., 2006; Di Leo et al., 2010; Raimundo et al., 2010). Una sintesi dei dati utilizzati è riportata nello schema di Tabella V.1.

157. Per quanto concerne i consumi alimentari della popolazione generale Italiana, i dati sono stati estratti dal *database* elaborato in sede EFSA (EFSA, 2011b,c,d), che riporta i consumi di 17 stati Europei relativamente a 20 macrocategorie di alimenti. I dati sono suddivisi in base alle diverse fasce di età. Vengono forniti numerosi descrittori statistici tra cui i valori medi e diversi percentili. I dati Italiani derivano dall'indagine sui consumi alimentari nazionali condotta dall'INRAN negli anni 2005–2006 su un campione di 3323 soggetti di età compresa tra 1 mese e 97 anni. Poiché lo scopo del presente studio è la valutazione del contributo all'*intake* dovuto al consumo di pesce e prodotti ittici sono state selezionate le categorie EFSA di consumo A.07.01 *Fish meat*, A.07.02 *Fish products*, A.07.04 *Crustaceans*, e A.07.05 *Water molluscs*. Inoltre è stata considerata la sola popolazione adulta costituita da 2313 soggetti. Poiché il numero degli individui che consumano pesce e prodotti ittici ( $N = 1432$  per la sottocategoria *Fish meat*) è sensibilmente inferiore al numero totale dei soggetti appartenenti al gruppo degli adulti, la valutazione dell'esposizione è stata condotta sul gruppo dei "soli consumatori" (*consumers only*), utilizzando il valore medio e il  $Q_{.95}$  dei consumi. Nella rielaborazione dei pertinenti dati EFSA e in relazione ai diversi scenari espositivi che potrebbero essere descritti, si è assunto pragmaticamente che le popolazioni dei consumatori di *Fish products* ( $N = 58$ ), *Water molluscs* ( $N = 465$ ), e *Crustaceans* ( $N = 253$ ) appartengano alla popolazione dei consumatori di *Fish meat* ( $N = 1432$ ). In base a tale considerazione i dati sono stati corretti utilizzando il rapporto tra il numero di consumatori della singola sottopopolazione e il numero di consumatori totali (*consumers only*) di *Fish meat*. Inoltre, utilizzando dati ISMEA relativi al consumo di singole specie di pesce in Italia suddivisi per macroregioni (ISMEA, 2007), i consumi delle due sottocategorie *Fish meat* e *Fish products* sono stati sommati e riproporzionati ottenendo i consumi relativi a ogni specie di pesce o prodotto ittico. Da tale rielaborazione, si sono ottenute le seguenti stime di consumo (Tabella V.2): valor medio, 1.11 g/kg-bw al giorno;  $Q_{.95}$ , 2.70 g/kg-bw al giorno.

#### STIMA DELL'INTAKE DI PCDD, PCDF, E DL-PCB (TEQ<sub>TOT</sub>)

158. Combinando valori medi ed elevati ( $Q_{.95}$ ) di consumo con dati medi di contaminazione sono stati ottenuti due scenari di esposizione che forniscono indicazioni sulla variabilità possibile all'interno della popolazione dei *consumers only*. Dalla Tabella V.3 si nota che l'esposizione media e quella elevata (rispettivamente, 4.06 e 9.77 pgWHO-TE<sub>97</sub>/kg-bw per settimana), relative al contributo associato all'assunzione di pesce e prodotti ittici per la popolazione Italiana, risultano pari rispettivamente al 29 e al 70 % del corrispondente TWI di

14 pgWHO-TE<sub>97</sub>/kg-bw per settimana (EC SCF, 2001). Il contributo in oggetto aumenta in relazione all'elevato consumo di tali alimenti, pur non superando la pertinente linea-guida tossicologica. L'esposizione relativa al consumo elevato di alimenti molto contaminati non è stata riportata in quanto costituisce essenzialmente una stima di carattere teorico che riguarda potenzialmente un numero molto ristretto di persone e può essere identificata come una situazione di *worst-case* (Kroes et al., 2002).

159. Le stime sopra riportate possono essere confrontate con stime dell'esposizione a PCDD, PCDF, e DL-PCB effettuate in precedenza (Fattore et al., 2006) utilizzando dati dei consumi alimentari nazionali degli anni '90 e dati di contaminazione medi di alimenti Europei. Il valore totale dell'*intake* alimentare del gruppo degli adulti (13–94 anni) era mediamente pari a 16.0 pgWHO-TE<sub>97</sub>/kg-bw per settimana (2.28 pgWHO-TE<sub>97</sub>/kg-bw per giorno), con un contributo della categoria *Fish and fishery products* intorno al 44 %, corrispondente a circa 7.02 pgWHO-TE<sub>97</sub>/kg-bw per settimana; contestualmente, l'*intake* corrispondente agli alti consumi (Q<sub>.95</sub>) era stimato pari a 35.0 pgWHO-TE<sub>97</sub>/kg-bw per settimana (5.00 pgWHO-TE<sub>97</sub>/kg-bw per giorno) con un possibile contributo della categoria *Fish and fishery products* intorno al 65 %, corrispondente a circa 22.8 pgWHO-TE<sub>97</sub>/kg-bw per settimana. Dal confronto con i valori d'*intake* (medio e Q<sub>.95</sub>) riportati in Tabella V.3 emerge che le stime di esposizione effettuate in questo studio sono inferiori approssimativamente del 42 % e del 57 % rispetto ai corrispondenti valori di intake associati ai *Fish and fishery products* stimati nel 2006. Ferme restando le incertezze intrinseche nelle elaborazioni descritte, la diminuzione riscontrata è verosimilmente influenzata anche dai seguenti fattori:

- introduzione di misure di gestione di rischio per i composti di interesse negli alimenti e nei mangimi nell'Unione Europea a partire dal 2001
- la diversità nei *database* della contaminazione (dati derivanti da tutti i paesi Europei contro dati attuali relativi al solo bacino mediterraneo)
- il periodo di riferimento dei *database* dei livelli dei contaminanti (il *database* Europeo è relativo a campioni prelevati prima del 2002 a fronte di concentrazioni riscontrate dopo il 2007)
- il periodo di riferimento dei *database* dei consumi nazionali (rilevamento del 1994–1996 nella pubblicazione del 2006 a fronte del rilevamento del 2005–2006 utilizzato nel presente studio).

## STIMA DELL'INTAKE DI METILMERCURIO

160. Similmente a quanto descritto per PCDD, PCDF, e DL-PCB, combinando valori medi ed elevati (Q<sub>.95</sub>) di consumo con dati medi di contaminazione da MeHg sono stati ottenuti due scenari d'esposizione che forniscono indicazioni sulla variabilità possibile all'interno della popolazione Italiana dei *consumers only*. Dalla

Tabella V.3 si nota che l'esposizione media e quella elevata — rispettivamente, 1.03 e 2.58  $\mu\text{g/kg-bw}$  per settimana — risultano pari rispettivamente al 64 e al 161 % del corrispondente PTWI di 1.6  $\mu\text{g/kg-bw}$  per settimana (JECFA, 2003).

161. La situazione descritta per i soggetti con alti consumi di pesce e prodotti ittici ( $Q_{.95}$ ) appare indicare valori d'esposizione alimentare superiori al PTWI. Anche se tale livello d'*intake* rientra comunque nel fattore di protezione (6.4) incluso nella linea-guida, ciò denota l'esistenza di possibili scenari d'esposizione della popolazione di potenziale interesse sanitario, riconducibili a situazioni particolari (Ginsberg & Toal, 2000; ICRAM, 2008). Al riguardo vale ricordare la specificità dell'area mediterranea, soggetta a rilasci di mercurio da diverse sorgenti naturali (Figura V.1), rispetto a quella dell'Europa continentale precedentemente richiamata (cfr. 091–092). Similmente a quanto fatto nel caso dei  $\text{TEQ}_{\text{TOT}}$ , l'esposizione relativa al consumo elevato di alimenti molto contaminati non è stata riportata in quanto essenzialmente stima di carattere teorico, che riguarda potenzialmente un numero ristretto di persone e può essere identificata come una situazione di *worst-case*. Si ricorda, infine, che, al contrario di PCDD, PCDF, e PCB, veicolati da quasi tutte le componenti alimentari, il MeHg è tipicamente presente nel pesce e nei prodotti ittici.

## SEZIONE VI — CONCLUSIONI

162. I metodi analitici utilizzati per la determinazione delle sostanze d'interesse sono descritti negli Allegati 1–3; l'Allegato 4 contiene i metodi riguardanti la determinazione dei lipidi totali, della composizione acidica, del colesterolo totale, dell'umidità, delle ceneri, e dell'azoto, e un saggio per valutare i parametri in grado d'influenzare la resa in parte edule del prodotto ittico.

163. La verifica dell'efficacia e dell'affidabilità delle procedure analitiche utilizzate nello studio è stata realizzata, prima e durante l'analisi dei campioni reali, mediante la distribuzione di materiali di composizione omogenea. Alle unità operative incaricate della determinazione dei contaminanti organici sono state distribuiti due campioni di olio di pesce, uno di burro, e due di anguilla caratterizzati da "valori di consenso" ottenuti in circuiti interlaboratorio internazionali. Per il controllo di qualità inerente i dati dei metalli sono state distribuite aliquote di latte vaccino liofilizzato adeguatamente caratterizzato.

164. Per quanto concerne gli obiettivi di questo studio, le caratteristiche (eco)tossicologiche dei contaminanti di interesse e i parametri di benessere animale sono stati riassunti in forma divulgativa nelle schede degli Allegati 5–8. Le fonti delle informazioni trattate sono in genere gli organi istituzionali preposti alla valutazione del rischio umano. Quando ciò non è risultato possibile, si è ricorso a letteratura scientifica referenziata.

165. I dati riportati nella Sezione IV con le elaborazioni tengono conto di tre aspetti:

- le distribuzioni di frequenza dei singoli contaminanti e i confronti con le distribuzioni, quando disponibili, a livello Europeo
- le differenze fra aree di campionamento
- gli elementi di variabilità specie-specifica.

165. Per quanto concerne le distribuzioni di frequenza dei singoli contaminanti, si è mostrato che, a eccezione del Hg, i livelli di contaminazione riscontrati risultano mediamente comparabili con quelli Europei o più bassi. Anche nel caso dei valori  $TEQ_{TOT}$ , in cui sono stati rilevati dei superamenti dei limiti normativi, il fenomeno sembra riguardare meno del 5 % della totalità dei campioni analizzati. Queste osservazioni riguardano in particolare i contaminanti normati di cui è stato possibile prendere in considerazione le distribuzioni di frequenza esistenti.

166. Per tutti gli altri contaminanti, l'informazione disponibile è insufficiente a derivare valutazioni specifiche. Queste osservazioni sembrano mostrare la necessità — individuata tra gli obiettivi della *Marine Strategy Framework Directive* (Swartenbroux et al., 2010) — di definire delle strategie bacino-specifiche di *management* del rischio chimico.

167. In relazione alle differenze fra aree di campionamento, le zone di pesca non mostrano differenze apprezzabili tra loro con un alto grado di confidenza statistica. Ciò suggerisce che relativamente al carico corporeo gli organismi considerati non si trovino esposti a sorgenti dirette di contaminazione per ciò che riguarda le sostanze studiate. Per quanto concerne la variabilità fra specie, è stata osservata una certa specie-specificità d'accumulo sia per i contaminanti organici sia per quelli inorganici. In quest'ambito, il carico corporeo sembra consistentemente dipendere dall'esposizione alimentare e non da quella ambientale, almeno per quanto riguarda i contaminanti organici. Infatti, appare molto chiara la differenza di profilo mostrata tra pesci nostrani allevati e selvatici. Nell'ambito dei selvatici, sembra esistere, inoltre, una differenza anche tra organismi che stanno maggiormente a contatto con i sedimenti rispetto a quelli pelagici.

168. Tra i contaminanti inorganici alcuni aspetti meritano di essere evidenziati. I crostacei sembrano essere i vettori della contaminazione del Hg nella catena alimentare. Poiché quelli monitorati sono bentonici e detritivori, è possibile che il trasferimento parta dai sedimenti marini e si propaghi poi nella rete alimentare marina. Questo aspetto sembra collegare l'esposizione dei predatori come i tonnagei alle precipue caratteristiche del bacino del Mediterraneo e ai suoi depositi naturali di cinabro. Inoltre, la mancanza di dati sui livelli di riferimento di alcuni elementi che hanno il duplice ruolo di nutrienti e agenti tossici riduce le possibilità di individuare le sorgenti locali di emissione.

169. Le analisi condotte sulle più importanti specie per il comparto della pesca a livello internazionale, quali l'alice, e nazionale, quali il merluzzo, la triglia e la palamita, hanno consentito di evidenziare eccellenti caratteristiche nutrizionali, per il basso contenuto di grassi e l'elevato apporto di acidi grassi PUFA n3 riscontrati in tutte le specie e, in particolare, in quelle provenienti dall'area del basso Tirreno. Ciò conferma che la caratterizzazione degli aspetti nutrizionali di specie ittiche, strettamente correlabili con la zona geografica di provenienza, potrebbe assumere grande importanza anche dal punto di vista socio-economico perché permetterebbe il recupero e la valorizzazione di attività produttive tradizionali legate a quella precisa area.

170. Relativamente alla qualità del prodotto allevato, l'importanza sempre maggiore che le fonti di lipidi nell'alimentazione per gli organismi acquatici stanno assumendo è dovuta al fatto che le carni dei prodotti ittici sono caratterizzate da

un limitato apporto di grassi saturi e da un'elevata presenza di monoinsaturi e polinsaturi. Sulla base di ciò, il tenore lipidico dei prodotti ittici risulta generalmente in linea con le raccomandazioni avanzate dagli organismi ufficiali preposti alla prevenzione delle cardiopatie ischemiche e di altre patologie cronico-degenerative nell'uomo.

171. Nel caso dei mangimi utilizzati per alimentare i pesci di allevamento, le materie prime di origine acquatica sono state impiegate come fonte prevalente per apportare amminoacidi e acidi grassi essenziali, seppure a esse si siano affiancate quote importanti di materie prime di origine vegetale. Nel caso della farina di pesce, la sua sostituzione con ingredienti alternativi viene attualmente motivata con la necessità di ridurre il prelievo delle risorse marine ma anche per mitigare l'impatto ambientale delle acque reflue degli impianti di allevamento. Tale sostituzione, tuttavia, non può prescindere dalla necessità di dover correggere gli effetti negativi che tale alimentazione esercita sulla qualità del prodotto ittico. Inoltre, il profilo amminoacidico delle proteine di origine vegetale che, sebbene in misura diversificata da ingrediente a ingrediente, si caratterizza per carenze più o meno accentuate e/o sbilanciamenti rispetto quello delle farine di pesce.

172. Il profilo in acidi grassi polinsaturi del pesce che ha assunto una determinata dieta nel corso del ciclo di ingrasso, pur riflettendo in buona parte il corrispondente apporto dietetico, dipende anche dalla capacità di trasformazione endogena degli acidi grassi precursori a derivati a lunga catena ed elevata insaturazione che è una caratteristica specie-specifica modulata dalla composizione in lipidi della dieta e dalle condizioni ambientali.

173. Relativamente alle condizioni di benessere del pesce allevato, sembra possibile affermare che l'orata e il branzino nelle condizioni di allevamento saggiate nel corso dello studio non abbiano manifestato evidenti sintomi di *stress* cronico. Ad ogni modo, l'ambiente e la densità di allevamento costituiscono i principali fattori in grado di incidere negativamente sul benessere e pertanto devono essere tenuti nella massima considerazione. Nell'ambito delle diverse specie ittiche, le diverse componenti ambientali e le densità di allevamento dovranno pertanto essere attentamente valutate qualora vengano varate norme nazionali e comunitarie in materia di benessere dei pesci.

174. Per valutare l'esposizione a PCDD, PCDF, DL-PCB, e Me-Hg nella popolazione generale Italiana adulta relativamente al solo consumo di pesce e prodotti ittici, è stata utilizzata una modellizzazione deterministica. Lo studio è stato incentrato sulla sottopopolazione dei consumatori (*consumers only*) di pesce e prodotti ittici, di età compresa tra 18 e 64 anni (soggetti adulti) suddividendo la macrocategoria dei pesci e prodotti in sottocategorie — pesce allevato, pesce azzurro, pesci predatori (tonno e simili), pesce spada, pesce persico, pangasio e

altro, crostacei, e molluschi — ciascuna caratterizzata da un valore di contaminazione e di consumo.

175. A eccezione dei molluschi, per i quali sono stati utilizzati dati di letteratura selezionati, per tutte le sottocategorie alimentari i dati di contaminazione utilizzati per la stima dell'esposizione derivano dalle distribuzioni di dati ottenute nel presente studio. Per ogni sottocategoria, è stato stimato un valore medio di contaminazione rappresentativo della sottocategoria, espresso in pgWHO-TE<sub>97</sub>/g *fw* per i TEQ<sub>TOT</sub> e in µg/g *fw* per il MeHg.

176. Per determinare i consumi alimentari di pesce e prodotti ittici della popolazione generale Italiana, sono stati utilizzati i dati estratti dal *database* elaborato in sede EFSA, che riporta i dati di 17 stati Europei relativamente a 20 macrocategorie di alimenti. Tali dati, opportunamente rielaborati, hanno fornito le seguenti stime di consumo: valor medio, 1.11 g/kg-bw al giorno; Q<sub>.95</sub>, 2.70 g/kg-bw al giorno.

177. Per ciò che concerne i TEQ<sub>TOT</sub> (PCDD+PCDF+DL-PCB), combinando i valori medi ed elevati (Q<sub>.95</sub>) di consumo con dati medi di contaminazione sono stati ottenuti due scenari di esposizione: uno caratterizzato da un'esposizione media pari a 4.06 pgWHO-TE<sub>97</sub>/kg-bw per settimana e l'altro caratterizzato da un'esposizione elevata pari a 9.77 pgWHO-TE<sub>97</sub>/kg-bw per settimana. Tali *intake* rappresenterebbero rispettivamente il 29 e il 70 % del corrispondente TWI di 14 pgWHO-TE<sub>97</sub>/kg-bw per settimana stabilito dall'EC SCF nel 2001.

178. In relazione al MeHg, e in analogia con quanto descritto per PCDD, PCDF, e DL-PCB, sono stati ottenuti due scenari d'esposizione caratterizzati da stime pari a 1.03 µg/kg-bw per settimana (esposizione media) e 2.58 µg/kg-bw per settimana (esposizione elevata). Tali stime risultano pari rispettivamente al 64 e al 161 % del corrispondente PTWI di 1.6 µg/kg-bw per settimana stabilito dal JECFA nel 2003. La situazione descritta per i soggetti con alti consumi di pesce e prodotti ittici (Q<sub>.95</sub>) appare indicare valori d'esposizione alimentare superiori al PTWI. Tale livello d'*intake* rientra comunque nel fattore di protezione (6.4) incluso nella linea-guida del JECFA ma denota, tuttavia, l'esistenza di possibili esposizioni della popolazione generale Italiana di potenziale interesse sanitario, riconducibili a situazioni particolari.

179. Alla luce dei previsti cambiamenti che la normativa in atto subirà a breve per l'adozione del sistema WHO-TEF<sub>05</sub> nella conversione analitico-tossicologico delle concentrazioni analitiche di PCDD, PCDF, e DL-PCB (cfr. Appendice), si è ritenuto opportuno valutare gli effetti di tale adozione sui dati delle sostanze predette quantificate nel presente studio. Pertanto, i livelli di contaminazione

espressi nello studio in unità WHO-TE<sub>97</sub>, sono stati convertiti in unità WHO-TE<sub>05</sub>. Successivamente, sono state caratterizzate le relative distribuzioni di frequenza.

180. Complessivamente i dati espressi in unità WHO-TE<sub>05</sub> sono decrementati rispetto ai corrispettivi WHO-TE<sub>97</sub>. Tuttavia, considerando che il ML previsto per PCDD+PCDF+DL-PCB per il pesce e i prodotti della pesca dovrebbe passare da 8.0 pgWHO-TE<sub>97</sub>/g *fw* (Regolamento 1881/06/CE) a 6.5 pgWHO-TE<sub>05</sub>/g *fw* (normativa in corso di adozione), i campioni risultati non conformi secondo il Regolamento 1881/06/CE risulterebbero non conformi anche per la nuova normativa. Per PCDD+PCDF, non si osserverebbero superamenti dei ML anche sulla base della normativa in corso di adozione. In relazione ai livelli di azione (AL) stabiliti recentemente dalla Raccomandazione 516/11/CE per il muscolo dei soli pesci di allevamento e di prodotti dell'acquacoltura, le concentrazioni di PCDD+PCDF e DL-PCB nei pesci allevati in studio (orate e branzini) risultano ben al di sotto dei AL di 1.5 e 2.5 di pgWHO-TE<sub>05</sub>/g *fw*, stabiliti nell'ordine per le due classi di sostanze.

181. I dati relativi ai sei NDL-PCB "indicatori" ottenuti nel presente studio sono stati confrontati con il ML introdotto per il muscolo di pesce nella revisione in corso del Regolamento 1881/06/CE. Da tale comparazione risulta che tra i 53 campioni analizzati solo due siano caratterizzati da un livello di contaminazione superiore a 75 ng/g *fw*, proposto quale *ex-novo* ML per questa classe di contaminanti. Per i restanti campioni, la contaminazione legata ai sei NDL-PCB "indicatori" è ben al di sotto del limite massimo proposto).

## **APPENDICE**

### **MODIFICA DEL SISTEMA DI CONVERSIONE ANALITICO-TOSSICOLOGICO PER PCDD, PCDF, E DL-PCB**

A1. Per facilitare il confronto dei dati analitici e di esposizione, ai fini della valutazione e della gestione di rischio, è prassi consolidata per PCDD, PCDF, e DL-PCB convertire i risultati analitici in equivalenti di 2,3,7,8-T<sub>4</sub>CDD (TE), calcolati moltiplicando la concentrazione analitica di ciascun congenere per il corrispondente fattore di tossicità equivalente (TEF). Sono stati proposti vari approcci per tale conversione: quelli attualmente utilizzati sono i WHO-TEF<sub>97</sub> e WHO-TEF<sub>05</sub> (Tabella A.1).

A2. Sebbene l'approccio WHO-TEF<sub>97</sub> venga in generale ancora impiegato nella valutazione di rischio per l'essere umano per stimare l'esposizione alimentare a PCDD, PCDF, e DL-PCB, così come, in ambito comunitario, per la definizione dei tenori massimi (ML) delle predette sostanze negli alimenti e nei mangimi (Regolamento 1881/06/CE), la scala di conversione WHO-TEF<sub>05</sub> è in via di recepimento nella normativa alimentare. In tal senso, la Tabella A.2 riassume alcuni livelli di gestione di rischio per il pesce e prodotti della pesca stabiliti o in via di recepimento nel quadro normativo Europeo. I livelli di azione (AL) precedentemente previsti per PCDD, PCDF, e DL-PCB in unità WHO-TE<sub>97</sub> (Raccomandazione 88/06/CE) sono stati recentemente modificati dalla Raccomandazione 516/11/CE che stabilisce per il muscolo di pesci di allevamento e di prodotti dell'acquacoltura AL espressi in unità WHO-TE<sub>05</sub>. Similmente, è in corso di adozione la revisione del Regolamento 1881/06/CE (SANCO/11248/2011 Rev. 2 (POOL/E3/2011/11248/11248R2-EN.doc) in cui, per l'espressione dei tenori massimi, è utilizzata la scala WHO-TEF<sub>05</sub> piuttosto che quella WHO-TEF<sub>97</sub>.

A3. Alla luce dei cambiamenti causati dall'adozione in campo alimentare della nuova normativa, si è ritenuto indispensabile valutare gli effetti di tali cambiamenti sui dati di PCDD, PCDF, e DL-PCB discussi nella Sezione IV del presente Rapporto. Pertanto, i livelli di contaminazione delle sostanze predette, espressi in unità WHO-TE<sub>97</sub> in Tabella IV.2, sono stati convertiti in unità WHO-TE<sub>05</sub> (Tabella A.3). Sulla base dei nuovi dati e in analogia a quanto già descritto (cfr. 073 e 074), sono state caratterizzate le relative distribuzioni di frequenza in unità WHO-TE<sub>05</sub> (Tabella A.4).

A4. La variabilità specie-specifica in relazione ai nuovi livelli di gestione di rischio stabiliti o in corso di adozione dalla normativa europea è mostrata nelle

Figure A.1–3. Complessivamente i dati espressi in unità WHO-TE<sub>05</sub> sono decrementati rispetto ai corrispettivi WHO-TE<sub>97</sub>, fenomeno particolarmente evidente soprattutto nel caso dei DL-PCB i cui TEF hanno subito le variazioni più marcate nel passaggio da una scala all'altra. Il ML previsto per i TEQ<sub>TOT</sub> (PCDD+PCDF+DL-PCB) per il pesce e i prodotti della pesca dovrebbe passare da 8.0 pgWHO-TE<sub>97</sub>/g *fw* (Regolamento 1881/06/CE) a 6.5 pgWHO-TE<sub>05</sub>/g *fw* (SANCO/11248/2011 Rev. 2 (POOL/E3/2011/11248/11248R2-EN.doc)). Sotto tali condizioni, i campioni di palamita non conformi secondo il Regolamento 1881/06/CE (cfr. 078–081) risulterebbero non conformi anche per la nuova normativa (Tabella A3, campioni MO A5 e PP A5). Per PCDD+PCDF, non si osservano superamenti dei ML anche in riferimento alla normativa in corso di adozione. In relazione ai AL, la Raccomandazione 516/11/CE ha abrogato quelli stabiliti per il muscolo di pesce e prodotti della pesca e loro derivati dalla Raccomandazione 88/06/CE introducendo AL esclusivamente per il muscolo di pesci di allevamento e di prodotti dell'acquacoltura. Alla luce della nuova normativa, è pertinente confrontare i AL con le concentrazioni di PCDD+PCDF e DL-PCB nei soli pesci allevati (orate e branzini). Tali concentrazioni risultano ben al di sotto dei AL di 1.5 e 2.5 di pgWHO-TE<sub>05</sub>/g *fw*, stabiliti rispettivamente per le due classi di sostanze.

A5. Nella revisione in corso del Regolamento 1881/06/CE (SANCO/11248/2011 Rev. 2 (POOL/E3/2011/11248/11248R2-EN.doc)) è stato introdotto un ML nel muscolo di pesce e prodotti della pesca e loro derivati anche per la somma delle concentrazioni analitiche dei sei NDL-PCB "indicatori" (congeneri 28, 52, 101, 138, 153, e 180). Sulla base dei dati ottenuti nel presente studio (cfr. Tabella IV.3), risulta che tra i 53 campioni analizzati solo due — le palamite MO A5 e PP A5 — siano caratterizzati da un livello di contaminazione superiore a 75 ng/g *fw*, proposto quale *ex-novo* ML per questa classe di contaminanti. Per i restanti campioni, la contaminazione legata ai sei NDL-PCB "indicatori" è ben al di sotto del limite massimo proposto (Figura A.4).

## BIBLIOGRAFIA

AOAC (1990). *Official Methods of Analysis — Meat and Meat Products*, 15th Edition, Vol. 2, pp. 931–948. Association of Official Analytical Chemists (Washington, DC, USA).

Bandarra N.M., Batista I., Nunes M.L., Empis J.M., & Christie W.W. (1997). Seasonal changes in lipid composition of Sardine (*Sardine pilchardus*). *Journal of Food Science* **62**, 40–42.

Bassompierre M., Tomasi G., Munck L., Bro R., & Engelsen S. (2007). Dioxin screening in fish product by pattern recognition of biomarkers. *Chemosphere* **67**, S28–S35.

Benneman R. (1977). The influence of acclimation and experimental temperature on glutamate dehydrogenase of carp red lateral muscle (*Cyprinus carpio* L.). *Journal of Thermal Biology* **2**, 209–214.

Bergmeyer H.U. (1974). *Method of Enzymatic Analysis*, Vol. 4, pp. 2066–2072. Academic Press (New York, NY, USA).

Bettinelli M., Spezia S., & Minoia C. (2004). Analysis of uranium and isotopic ratio measurement in fish and marine invertebrates from the north Adriatic sea by inductively coupled plasma mass spectrometry. *Rapid Communication in Mass Spectrometry* **18**, 465–468.

Bischoff A.A., Fink P., & Waller U. (2009). The fatty acid composition of *Nereis diversicolor* cultured in an integrated recirculated system: Possible implications for aquaculture. *Aquaculture* **296**, 271–276.

Bou-Olayan A.H., Al-Yakoob S., & Al-Hossaini M. (1995). Arsenic in shrimp from Kuwait. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* **54**, 584–590.

Brereton R.G. (2003). *Chemometrics. Data Analysis for the Laboratory and Chemical Plant*. Wiley and Sons (Oxford, UK).

Burger J. & Gochfeld M. (2005). Heavy metals in commercial fish in New Jersey. *Environmental Research* **99**, 403–412.

- Campo D., Mostarda E., Castriota L., Scarabello M.P., & Andaloro F. (2006). Feeding habits of the Atlantic bonito, *Sarda sarda* (Bloch, 1793), in the southern Tyrrhenian sea. *Fisheries Research* **81**, 169–175.
- Canli M. & Atli G. (2003). The relationship between heavy metal (Cd, Cr, Cu, Fe, Pb, Zn) levels and size of six Mediterranean fish species. *Environmental Pollution* **121**, 129–136.
- Canli M. & Furness R.W. (2010). Mercury and cadmium uptake from seawater and from food by the Norway lobster *Nephrops norvegicus*. *Environmental Toxicology and Chemistry* **14**, 819–828.
- Celik M. (2008). Seasonal changes in the proximate chemical compositions and fatty acids of chub mackerel (*Scomber japonicus*) and horse mackerel (*Trachurus trachurus*) from the north eastern Mediterranean sea. *International Journal of Food Science and Technology* **43**, 933–938.
- Cheung K.C., Leung H.M., Kong K.Y., & Wong M.H. (2007). Residual levels of DDTs and PAHs in freshwater and marine fish from Hong Kong markets and their health risk assessment. *Chemosphere* **66**, 460–468.
- Christopherson S.W. & Glass R.L. (1969). Preparation of milk methyl esters by alcoholysis in an essentially non-alcoholic solution. *Journal of Dairy Science* **52**, 1289–1290.
- Cibert C., Fermon Y., Vallod D., & Meunier F. (1999). Morphological screening of carp *Cyprinus carpio*: Relationship between morphology and fillet yield. *Aquatic Living Resources* **12**, 1–10.
- Claisse D., Cossa D., Bretaudeau-Sanjuan J., Touchard G., & Bombled B. (2001). Methylmercury in molluscs along the French coast. *Marine Pollution Bulletin* **42**, 329–332.
- Clulow F.W., Davé N.K., Lim T.P., & Avadhanula R. (1998). Radionuclides (lead-210, polonium-210, thorium-230 and -232) and thorium and uranium in water, sediments, and fish from lakes near the city of Elliot Lake, Ontario, Canada. *Environmental Pollution* **99**, 199–213.
- Di Leo A., Cardellicchio N., Giandomenico S., & Spada L. (2010). Mercury and methyl mercury contamination in *Mytilus galloprovincialis* from Taranto gulf (Ionian sea, southern Italy): Risk evaluation for consumers. *Food and Chemical Toxicology* **48**, 3131–3136.

EC SCF (2001). Opinion of the Scientific Committee on Food on the risk assessment of dioxins and dioxin-like PCBs in food. Update based on new scientific information available since the adoption of the SCF Opinion of 22nd November 2000. *CS/CNTM/DIOXIN/20 Final*, Health and Consumer Protection Directorate-General, European Commission (Brussels).

EFSA (2004). Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the Commission to assess the health risks to consumers associated with exposure to organotins in foodstuffs. *The EFSA Journal* **102**, 1–119.

EFSA (2005a). Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the European Parliament related to the safety assessment of wild and farmed fish. *The EFSA Journal* **236**, 1–118.

EFSA (2005b). Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the Commission related to the presence of non-dioxin-like polychlorinated biphenyls (PCBs) in feed and food. *The EFSA Journal* **284**, 1–187.

EFSA (2005c). Opinion of the Scientific Panel on Dietetic Products, Nutrition, and Allergies on a request from the Commission related to the tolerable upper intake level of tin. *The EFSA Journal* **254**, 1–25.

EFSA (2008). Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain on Perfluorooctane sulfonate (PFOS), Perfluorooctanoic acid (PFOA), and their salts. *The EFSA Journal* **653**, 1–131.

EFSA (2009a). Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain on arsenic in food. *The EFSA Journal* **7**(10): 1351.

EFSA (2009b). Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain on uranium in foodstuffs, in particular mineral water. *The EFSA Journal* **1018**, 1–59.

EFSA (2010a). Scientific report of EFSA — Results of the monitoring of dioxin levels in food and feed. *The EFSA Journal* **8**(3): 1385.

EFSA (2010b). Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain on Lead in Food. *The EFSA Journal* **8**(4): 1570.

EFSA (2011a). Scientific report of EFSA — Results of the monitoring of perfluoroalkylated substances in food in the period 2000–2009. *The EFSA Journal* **9**(2): 2016.

EFSA (2011b). Comprehensive European Food Consumption Database.  
Available at: <http://www.efsa.europa.eu/en/datexfoodcdb/datexfooddb.htm>

EFSA (2011c). Comprehensive European Food Consumption Database in Exposure Assessment.  
Available at: [http://www.efsa.europa.eu/en/datexfooddb/docs/datexfooddb\\_chronicgday.xls](http://www.efsa.europa.eu/en/datexfooddb/docs/datexfooddb_chronicgday.xls)

EFSA (2011d). Comprehensive European Food Consumption Database in Exposure Assessment.  
Available at: [http://www.efsa.europa.eu/en/datexfooddb/docs/datexfooddb\\_chronicgbwday.xls](http://www.efsa.europa.eu/en/datexfooddb/docs/datexfooddb_chronicgbwday.xls)

EFSA (2011e). Scientific Opinion on Polybrominated Diphenyl Ethers (PBDEs) in Food. The EFSA Journal 9(5): 2156.

Fattore E., Fanelli R., Turrini A., & di Domenico A. (2006). Current dietary exposure to polychlorodibenzo-pdioxins, polychlorodibenzofurans, and dioxin-like polychlorobiphenyls in Italy. *Molecular Nutrition and Food Research* **50**, 915–921.

Fielding A.H. (2007). *Cluster and Classification Techniques for the Bioscience*. Cambridge University Press (Cambridge, UK).

Folch J., Lees M., & Sloane-Stanley G.H. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *The Journal of Biological Chemistry* **226**, 497–509.

GEMS/Food (2003). *Regional Diets* (Appendix 4: Evaluation of low level contamination of foods). Global Environment Monitoring System, Food Contamination Monitoring and Assessment Programme, Food Safety Department, World Health Organization (Geneva, Switzerland).

Geri G., Lupi P., Parisi G., Dell'Agnello M., Martini A., & Pinzetta M.P. (1995). Morphological characteristics and chemical composition of muscle in the mirror carp (*Cyprinus carpio* var. *specularis*) as influenced by body weight. *Aquaculture* **129**, 323–327.

Ginsberg G.L. & Toal B.F. (2000). Development of a single-meal fish consumption advisory for methyl mercury. *Risk Analysis* **20**, 41–47.

Haber L.T., Diamond G.L., Zhao Q., Erdreich L., & Dourson M.L. (2000). Hazard identification and dose response of ingested nickel-soluble salts. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* **31**, 231–241.

Hamilton M.C., Hites R., Schwager S., Foran J., Knuth B., & Carpenter D. (2005). Lipid composition and contaminants in farmed and wild salmon. *Environmental Science and Technology* **39**, 8622–8629.

Horpestad Liane V. & Becher G. (2007). *Interlaboratory Comparison on Dioxins in Food 2007. Eight Round of an International Study*. Norwegian Institute of Public Health (Nydalen, Norway).

Huntingford F. (2002). Welfare and aquaculture. In *Aquaculture Europe "Proceedings of Seafarming Today and Tomorrow"*, pp. 52–54.

Hill R.W., Wise G.A., & Anderson M. (2004). *Animal Physiology*. Sinauer Associates Publishers (Sunderland, MA, USA).

ICRAM (2008). *Piano di Indagini Finalizzato alla Bonifica e al Risanamento Ambientale della Laguna di Orbetello*, relazione finale. Istituto Centrale per la Ricerca Scientifica e Tecnologica Applicata al Mare (Roma).

Ipolyi I., Massanisso P., Sposato S., Fodor P., & Morabito R. (2004). Concentration levels of total and methyl mercury in mussel samples collected along the coasts of Sardinia island (Italy). *Analytica Chimica Acta* **505**, 145–151.

ISMEA (2007). *Il Settore Ittico in Italia e nel Mondo: Le Tendenze Recenti*. Istituto di Servizi per il Mercato Agricolo Alimentare (Roma).

Available at: <http://www.ismea.it/flex/cm/pages/ServeBLOB.php/L/IT/IDPagina/2756>

JECFA (2003). Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Sixty-first meeting. Summary and conclusions.

Available at: <ftp://ftp.fao.org/es/esn/jecfa/jecfa61sc.pdf>

Jensen C.S., Menné T., & Johansen J.D. (2006). Systemic contact dermatitis after oral exposure to nickel: A review with a modified meta-analysis. *Contact Dermatitis* **54**, 79–86.

Kalyoncu L., Agca I., & Aktumsek A., (2009). Some organochlorine pesticide residues in fish species in Konya, Turkey. *Chemosphere* **74**, 885–889.

Kawashima A., Watanabe S., Iwakiri R., & Honda K. (2009). Removal of dioxins and dioxin-like PCBs from fish oil by countercurrent supercritical CO<sub>2</sub> extraction and activated carbon treatment. *Chemosphere* **75**, 788–794.

Kestin S.C. (1994). *Pain and Stress in Fish*. Royal Society for the Prevention of Cruelty to Animals (Horsham, UK).

Klemm D.J., Stober Q.J., & Lazorchak J.M. (1993). *Fish Field and Laboratory Methods for Evaluating the Biological Integrity of Surface Waters*, pp. 83–95. United States Environmental Protection Agency (Washington, DC, USA).

Kljaković-Gašpić Z., Odžak N., Ujević I., Zvonarić T., Horvat M., & Barić A. (2006). Biomonitoring of mercury in polluted coastal area using transplanted mussels. *Science of the Total Environment* **368**, 199–209.

Korshon M., Telbany M., & Mandoor A.A. (1994). Effects of species and stocking system on biochemical profile of some serum constituents in fish. *Veterinary Medicine Journal* **42**, 41–45.

Kroes R., Müller D., Lambe J., Löwik M.R., van Klaveren J., Kleiner J., Massey R., Mayer S., Urieta I., Verger P., & Visconti A. (2002). Assessment of intake from the diet. *Food and Chemical Toxicology* **40**, 327–385.

Lei K., Li F., Zhang M., Yang H., Luo T., & Xu X. (2008). Difference between hemocyanin subunits from shrimp *Peneaus japonicus* in anti-WSSV defense. *Developmental and Comparative Immunology* **32**, 808–813.

Majkowski J. (2007). Global fishery resources of tuna and tuna-like species. *FAO Fisheries Technical Paper* **438**, United Nations Food and Agriculture Organization (Roma).

Mason R.P., Reinfelder J.R., & Morel F.M.M. (1995). Bioaccumulation of mercury and methylmercury. *Water, Air, and Soil Pollution* **80**, 915–921.

Maule G.A., Gannam A., & Davis J.W. (2007). Chemical contaminants in fish feeds used in federal salmonid hatcheries in the USA. *Chemosphere* **67**, 1308–1315.

McBean E.A. & Rovers F.A. (1998). *Statistical Procedures for Analysis of Environmental Monitoring Data and Risk Assessment*. Prentice-Hall (Upper Saddle River, NJ, USA).

Melotti P., Roncarati A., Angellotti L., Dees A., Magi G.E., Mazzini C., Bianchi C., & Casciano R. (2004). Effects of rearing density on rainbow trout welfare, determined by plasmatic and tissue parameters. *Italian Journal of Animal Science* **3**, 297–304.

Milazzo A., Corrao A., & Schinelli R. (1992). Variazioni stagionali dei contenuti di grasso totale e di acidi grassi poliinsaturi in esemplari di *Sardina pilchardus* pescati

nel canale di Sicilia. *Rivista della Società Italiana di Scienze dell'Alimentazione* **21**, 471–479.

Miller J.N. (1993). Outliers in experimental data and their treatment. *Analyst* **118**, 455–461.

Miniero R. & Iamiceli A.L. (2008). Persistent organic pollutants. In *Encyclopedia of Ecology*, Vol. 4, pp. 2672–2682. Jørgensen S.E. & Fath B.D., Eds., Elsevier (Oxford, UK).

Miniero R., Brambilla G., Chiaravalle E., Mangiacotti M., Brizzi G., Ingelido A.M., Abate V., Cascone V., Ferri F., Iacovella N., di Domenico A. (2011). Chemometric data analysis application to *Sparus aurata* samples from two offshore farming plants along the Apulian (Italy) coastline. *Chemosphere*, **85**, 465–472.

Miramand P., Fowler S.W., & Guary J.C. (1992). Experimental study on vanadium transfer in the benthic fish *Gobius minutus*. *Marine Biology* **114**, 439–453.

Montero D., Izquierdo M.S., Tort L., Robaina L., & Vergara J.M. (1999). High stocking density produces crowding stress altering some physiological and biochemical parameters in gilthead seabream, *Sparus aurata*, juveniles. *Fish Physiology and Biochemistry* **20**, 53–60.

Moriarty F. (1999). *Ecotoxicology, the Study of Pollutants in Ecosystems*, 3rd edition. Academic Press (San Diego, CA, USA).

Murdock D.H. (2002). *Encyclopedia of foods: A guide to healthy nutrition*. Academic Press (San Diego, CA, USA).

NRC (2000). *Toxicological Effects of Methylmercury*. National Research Council, The National Academies Press (Washington, DC, USA).

Nunes M.L., Cardinali M., Mendes R., Campos R.M., Bandarra N.M., Lourenco H.M., & Jerome M. (1991). Effect of season and ice storage on proteins and lipids of sardine (*Sardina pilchardus*) minces and surimi. In *Quality Assurance in the Fish Industry*, pp. 63–72. Huss H., Jakobsen M., & Liston J., Eds. Elsevier (Amsterdam, Netherlands).

Osman H., Suriah A.R., & Law E.C. (2001). Fatty acid composition and cholesterol content of selected marine fish in Malaysian waters. *Food Chemistry* **73**, 55–60.

Ozden O. (2010). Micro, macro mineral and proximate composition of Atlantic bonito and horse mackerel: A monthly differentiation. *International Journal of Food Science and Technology* **45**, 578–586.

Paustenbach D.J., Ed. (2002). *Human and Ecological Risk Assessment — Theory and Practice*. John Wiley and Sons (New York, NY, USA).

Raimundo J., Vale C., Canário J., Branco V., & Moura I. (2010). Relations between mercury, methyl mercury and selenium in tissues of *Octopus vulgaris* from the Portuguese coast. *Environmental Pollution* **158**, 2094–2100.

Roncarati A., Dees A., Mordenti O., Angellotti L., & Melotti P. (2006). Welfare status of cultured seabass (*Dicentrarchus labrax* L.) and seabream (*Sparus aurata* L.), assessed by blood parameters and tissue characteristics. *Journal of Applied Ichthyology* **22**, 225–234.

Soares S.S., Martins H., Gutierrez-Merino C., & Aureliano M. (2008). Vanadium and cadmium *in vivo* effects in teleosts cardiac muscle: Metal accumulation and oxidative stress markers. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C*, **147**, 168–178.

SCOOP (2004). Assessment of the dietary exposure to arsenic, cadmium, lead, and mercury of the population of the EU Member States. *Scientific Cooperation Task 3.2.11 Report of Experts*. Directorate-General Health and Consumer Protection, European Commission (Brussels, Belgium).

Skwarzec B. (1999). Polonium, uranium, and plutonium in the southern Baltic ecosystem. *Czechoslovak Journal of Physics* **49** (S1), 461–466.

Swartenbroux F., Albajedo B., Angelidis M., Aulne M., Bartkevics V., Besada V., Bignert A., Bitterhof A., Hallikainen A., Hoogenboom R., Jorhem L., Jud M., Law R., Licht Cederberg D., McGovern E., Miniero R., Schneider R., Velikova V., Verstraete F., Vinas L., & Vlad S. (2010). Marine strategy framework directive — Task Group 9 Contaminants in fish and other seafood. *EUR 24339 EN — 2010*. JRC Scientific and Technical Reports (Brussels, Belgium).

Tornaritis M., Peraki E., Georgulli M., Kafatos A., Charalambakis G., Divanack P., Kentouri M., Yiannopoulos S., Frenaritou H., & Argyrides R. (1993). Fatty acid composition and total fat content of eight species of Mediterranean fish. *International Journal of Food Science and Nutrition* **45**, 135–139.

Tortonese E. (1970). *Osteichthyes (Pesci Ossei) — Parte Prima*, pp. 107–110. Officine Grafiche Calderini (Bologna).

Turkmen M., Turkmen A., Tepe Y., Ates A., & Gokkus K. (2008). Determination of metal contaminations in sea food from Marmara, Aegean, and Mediterranean seas: Twelve fish species. *Food Chemistry* **108**, 794–800.

Tuzen M. (2009). Toxic and essential trace elemental contents in fish species from the Black sea, Turkey. *Food and Chemical Toxicology* **47**, 1785–1790.

UNEP (2002). Mediterranean regional report. *Regionally Based Assessment of Persistent Toxic Substances*, United Nations Environment Programme "Chemicals".

US DHHS (1999). *Toxicological Profile for Uranium (Update)*. Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Public Health Service, US Department of Health and Human Services (Springfield, VA, USA)

Van den Berg M., Birnbaum L., Bosveld A.T., Brunstrom B., Cook P., Feeley M., Giesy J.P., Hanberg A., Hasegawa R., Kennedy S.W., Kubiak T., Larsen J.C., van Leeuwen F.X., Liem A.K., Nolt C., Peterson R.E., Poellinger L., Safe S., Schrenk D., Tillitt D., Tysklind M., Younes M., Waern F., & Zacharewski T. (1998). Toxic equivalency factors (TEFs) for PCBs, PCDDs, PCDFs for humans and wildlife. *Environmental Health and Perspectives* **106**, 775–92.

WHO (1985). Guidelines for the study of dietary intakes of chemical contaminants. *Offset Publication* **87**, World Health Organization (Geneva, Switzerland).

WHO (1988). Chromium. *Environmental Health Criteria* **61**, International Programme on Chemical Safety, World Health Organization (Geneva, Switzerland).

WHO (1988). Vanadium. *Environmental Health Criteria* **81**. International Programme on Chemical Safety, World Health Organization (Geneva, Switzerland).

WHO (2001). Vanadium pentoxide and other inorganic vanadium compounds. *Concise International Chemical Assessment Document* **29**, World Health Organization (Geneva, Switzerland).

WHO (2009). Inorganic chromium(III) compounds. *Concise International Chemical Assessment Document* **76**, World Health Organization (Geneva, Switzerland).

Zaboukas N., Miliou H., Megalofonou P., & Moraitou-Apostolopoulou M. (2006). Biochemical composition of the Atlantic bonito *Sarda sarda* from the Aegean Sea (eastern Mediterranean sea) in different stages of sexual maturity. *Journal of Fish Biology* **69**, 347–362.

Zlatanov S. & Laskaridis K. (2007). Seasonal variation in the fatty acid composition of three Mediterranean fish — Sardine (*Sardina pilchardus*), anchovy (*Engraulis encrasicolus*), and picarel (*Spicara smaris*). *Food Chemistry* **103**, 725–728.