

**UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE  
DIPARTIMENTO DI SCIENZE DELLA VITA E DELL'AMBIENTE**

**Corso di Laurea Magistrale in  
BIOLOGIA MOLECOLARE E APPLICATA**



---

**DETERMINAZIONE DEL CONTENUTO DI MERCURIO NEL FILETTO  
DI MERLUCCIUS MERLUCCIUS E MULLUS BARBATUS**

**DETERMINATION OF MERCURY CONTENT IN THE FILLET OF  
MERLUCCIUS MERLUCCIUS AND MULLUS BARBATUS**

Tesi di Laurea Magistrale  
di: Sabrina Peroni

Relatore:  
Prof.ssa Cristina Truzzi

Primo Correlatore:  
Dott.ssa Anna Annibaldi

---

Sessione estiva  
Anno Accademico 2019/2020

# INDICE

<b>1. INTRODUZIONE</b> .....	1
<b>1.1 Il nasello - <i>Merluccius Merluccius</i></b> .....	3
1.1.1- <i>Morfologia</i> .....	5
1.1.2- <i>Abitudini di vita</i> .....	6
1.1.3- <i>Pesca e Regolamentazioni</i> .....	8
1.1.4 – <i>caratteristiche nutrizionali del <i>Merluccius merluccius</i></i> .....	11
<b>1.2- La triglia - <i>Mullus barbatus</i></b> .....	12
1.2.1- <i>Morfologia</i> .....	12
1.2.2- <i>Abitudini di vita</i> .....	14
1.2.3- <i>Pesca e regolamentazioni</i> .....	16
1.2.4 - <i>Caratteristiche nutrizionali della triglia di fango</i> .....	19
<b>1.3- Consumo di pesce in Italia</b> .....	21
<b>1.4- Metalli pesanti</b> .....	23
1.4.1- <i>Mercurio</i> .....	25
1.4.2- <i>Ciclo biogeochimico</i> .....	27
1.4.3 - <i>Mercurio e mar Adriatico</i> .....	30
1.4.4- <i>Tossicità del mercurio</i> .....	35
1.4.5- <i>Mar Mediterraneo, mercurio e altri pesci</i> .....	40
<b>2. SCOPO DELLA TESI</b> .....	43
<b>3. MATERIALI E METODI</b> .....	44
<b>3.1- Area di studio e campionamento</b> .....	44
<b>3.2 – Campionamento</b> .....	45
<b>3.3 – Laboratorio</b> .....	47
<b>3.4 - Reagenti e soluzioni standard</b> .....	48
<b>3.5.- Trattamento dei campioni</b> .....	50
3.5.1- <i>Liofilizzazione</i> .....	50
3.5.2 – <i>Estrazione dei lipidi</i> .....	51
3.5.3 – <i>Determinazione del Mercurio</i> .....	55
<b>4 - RISULTATI</b> .....	62
<b>4.1 – <i>Merluccius merluccius</i></b> .....	62
4.1.1- <i>Parametri biometrici e tenore in peso secco e lipidi di <i>Merluccius merluccius</i></i> .....	62
<b>4.1.2 - Concentrazione di Hg in <i>Merluccius merluccius</i></b> .....	68
<b>4.2 – <i>Mullus barbatus</i></b> .....	77
4.2.1. - <i>Parametri biometrici e tenore in peso secco e lipidi di <i>Mullus barbatus</i></i> .....	77
4.2.2 - <i>Concentrazione di Hg in <i>Mullus barbatus</i></i> .....	80
4.2.2.1 - <i>Correlazione tra contenuto di Hg e peso di <i>Mullus barbatus</i></i> .....	86

4.2.2.2 -Correlazione tra contenuto di Hg e contenuto di lipidi in <i>Mullus barbatus</i> .....	86
<b>5. DISCUSSIONE</b> .....	90
<b>6. CONCLUSIONI</b> .....	97
<b>BIBLIOGRAFIA</b> .....	98



## 1. INTRODUZIONE

Nel settore alimentare il consumo di pesci e molluschi rappresenta un elemento fondamentale della dieta umana in molte parti del mondo, e sta imponendosi per quote crescenti anche in paesi tradizionalmente meno dipendenti da questa fonte alimentare. Pur restando al di sotto della media europea, negli ultimi 25 anni in Italia il consumo giornaliero pro capite di prodotti ittici è quasi raddoppiato, passando dai 13 kg degli anni '80 a circa 21 kg (dati Federalimentari, 2007).

L'Allegato I del Reg. CE 853/2004 relativo a norme specifiche in materia di igiene per gli alimenti di origine animale, al punto 3.1 definisce come prodotti della pesca “tutti gli animali marini o di acqua dolce (ad eccezione dei molluschi bivalvi vivi, echinodermi vivi, tunicati vivi e gasteropodi marini vivi e di tutti i mammiferi, rettili e rane), selvatici o di allevamento, e tutte le forme, parti e prodotti commestibili di tali animali”.

Secondo la classificazione ISSCAAP (International Standard Statistical Classification of Aquatic Animals and Plants) i prodotti ittici si suddividono in: pesci di acqua dolce, pesci diadromi, pesci marini, crostacei e molluschi.

Secondo l'anatomia, riproduzione e biologia i pesci sono vertebrati e si possono distinguere in tre gruppi: pesci privi di mascelle o ciclostomi, pesci a scheletro cartilagineo, o selaci (poco numerosi, es. squali e razze) e pesci a scheletro osseo o teleostei che comprendono la quasi totalità delle specie.

La fauna ittica del Mediterraneo è caratterizzata da un'elevata biodiversità con 532 specie di teleostei e 81 specie di pesci cartilaginei che corrispondono rispettivamente al 4.1% e 9.5% del totale delle specie marine descritte per questi due gruppi (Serena, 2005). Sono inoltre presenti 3 specie di pesci ciclostomi. È una percentuale consistente se si considera che il Mediterraneo costituisce solamente lo 0.32% del volume totale della massa d'acqua oceanica.

Secondo i dati FAO, nel 2007 l'Italia, con una produzione complessiva di 524.000 tonnellate, si è collocata al sesto posto fra i maggiori paesi produttori di pesci, molluschi e crostacei dell'UE 27, (dopo Spagna, Regno Unito, Francia, Danimarca, Paesi Bassi) con un'incidenza sulla produzione totale del 7.2%.

In particolare, nelle Marche secondo studi Mipaaf-Irepa del 2012, come mostra la tabella 1, dopo acciughe e sardine, le catture maggiori sono quelle di naselli (886 tonnellate) e triglie di fango (647 tonnellate) (elaborazione Ismea su dati Istat).

Tabella 1 Quantità di pesci pescati nelle Marche nel 2012 (Mipaaf-Irepa, 2012)

Specie	Catture (ton.)
Acciughe	7.538
Sardine	1.143
Lanzardi e sgombri	122
Alalunghe	-
Palamita	15
Pesce Spada	0
Tonni rossi	2
Altri tonni	0
Boghe	0
Caponi	270
Cappellani o bushane	84
Cefali	474
Menole e spicare	12
Merlani o moli	56
Naselli	886
Pagelli Fragolino	9
Potassoli	68
Raiformi	38
Rane pescatrici	185
Ricciole	3
Rombi	21
Sogliole	585
Squali	20
Sugarelli	241
Triglie di fango	647
Triglie di scoglio	0
Altri pesci	978
<b>Totale pesci</b>	<b>13.399</b>

### ***1.1 Il nasello - Merluccius Merluccius***

La famiglia Merluccidae (Lloris et al., 2005), è composta da 4 generi e ben 18 specie distribuite nell'Oceano Atlantico, nell'Oceano Pacifico orientale, in Tasmania e in Nuova Zelanda. In particolare, il genere *Merluccius* comprende 13 specie per dodici delle quali la distribuzione è ben visibile in figura 1. La tredicesima specie è *M. patagonicus*.

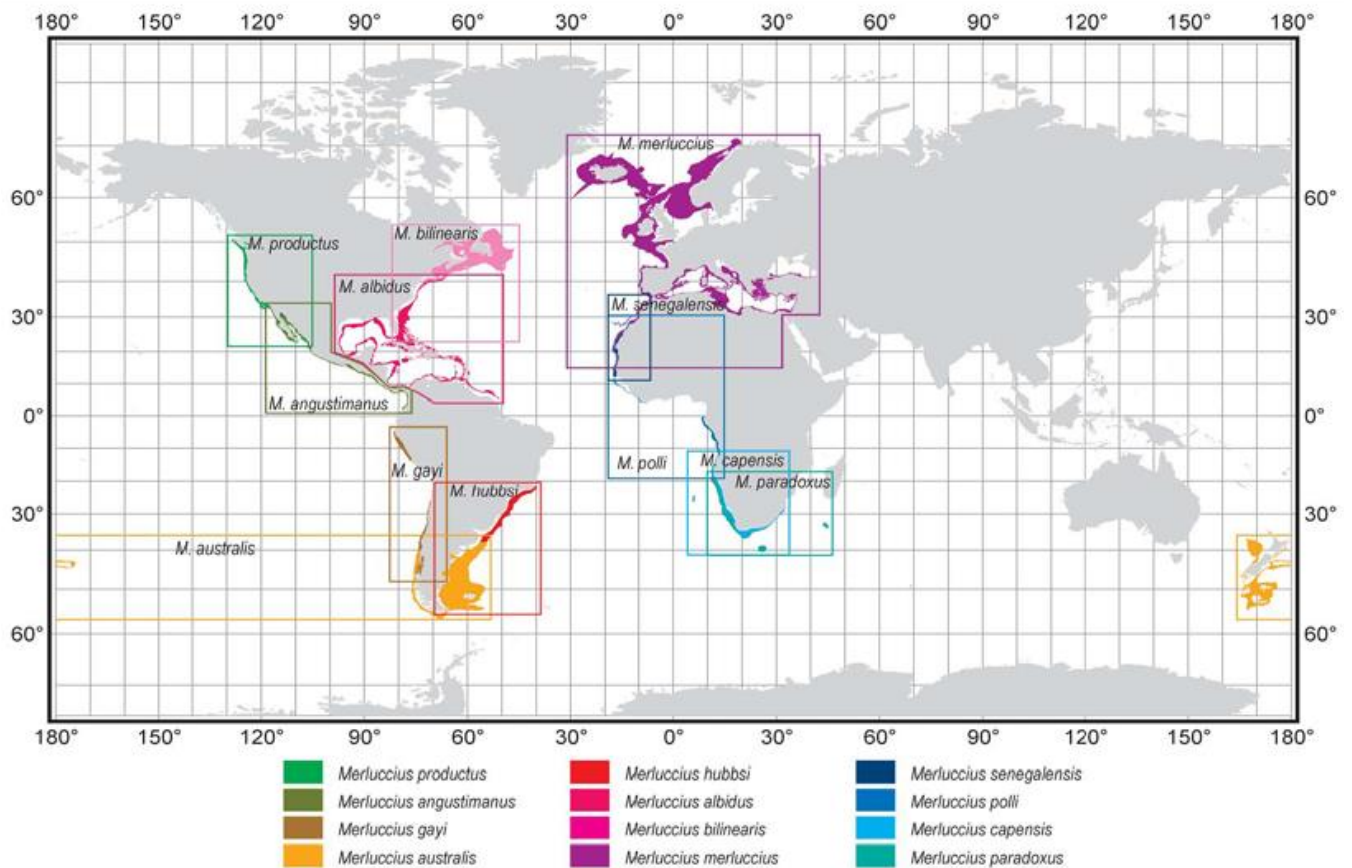


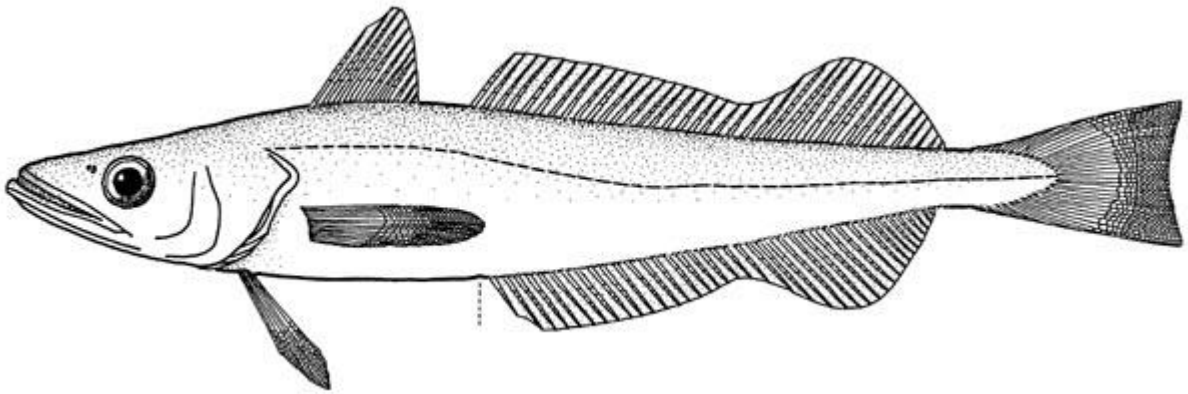
Figura 1 – Distribuzione delle specie del genere *Merluccius* (Lloris et al., 2005)

Secondo la legislazione italiana (Decreto Ministeriale del 14 gennaio 2005, Allegato A) con il nome di nasello si intende la sola specie *Merluccius merluccius*. La distribuzione geografica del nasello comprende il Mar Mediterraneo e le coste meridionali del Mar Nero. Nell'Atlantico orientale si trova dalle coste della Norvegia e dell'Islanda fino alle coste della Mauritania.



### ***1.1.1- Morfologia***

Il Nasello ha un corpo allungato affusolato, e compresso moderatamente ai lati (Figura 2).



*Figura 2 - Merluccius merluccius*

Presenta una testa ampia, lunga e depressa dorso-ventralmente, mentre il muso è conico; la parte superiore presenta una depressione delimitata da due basse creste ossee a forma di V (Tortonese, 1975). La bocca, ampia e prominente, presenta due o tre serie di denti acuminati, di cui quelli della serie esterna sono fissi corti e appuntiti, mentre quelli interni sono più lunghi e pieghevoli all'indietro (Bini, 1968). L'occhio è rotondo e non molto grande. La pinna dorsale è corta, alta e sub-triangolare, mentre la seconda arriva fino al peduncolo caudale. L'altezza della seconda dorsale decresce fino ad un certo punto, per poi aumentare sino ad avere la parte posteriore più alta dell'anteriore. La pinna anale è simile per dimensioni e simmetrica rispetto alla precedente. La pinna caudale è a spatola e le ventrali, in posizione giugulare, hanno dimensioni simili alle pettorali (Bombace e Lucchetti, 2011). Il nasello presenta un dorso grigio-argenteo e i fianchi più chiari, con riflessi argentati e ventre bianco (FAO, 1990).

### 1.1.2- *Abitudini di vita*

Il *Merluccius merluccius* è un predatore molto vorace che vive vicino al fondo durante il giorno mentre risale nella notte ed ha tuttavia rapporti abituali con il fondo del mare, soprattutto di natura trofica (Bombace e Lucchetti, 2011).

*Merluccius merluccius* nel Mare Adriatico vive sia al limite della piattaforma continentale, sia in acque costiere (Gramitto, 2001), sia in acque batiali ed è stato rinvenuto da 20 a 1000 m di profondità (Fig. 3) anche se più comunemente vive al di sopra dei 700 m (Fischer *et al.*, 1987). Il nasello è ampiamente diffuso nell'intero bacino ad eccezione della parte più settentrionale a nord della foce del Po. L'abbondanza maggiore è stabilmente ritrovata a profondità maggiori di 100 m nell'Adriatico centrale, dove la popolazione è principalmente costituita da giovani.

La dieta varia con l'età: gli adulti si nutrono principalmente di pesci, soprattutto acciughe e calamari, mentre i giovani preferiscono i crostacei (Stagioni, 2011). Se le prede scarseggiano, non sono rari i fenomeni di cannibalismo (Bombace e Lucchetti, 2011).

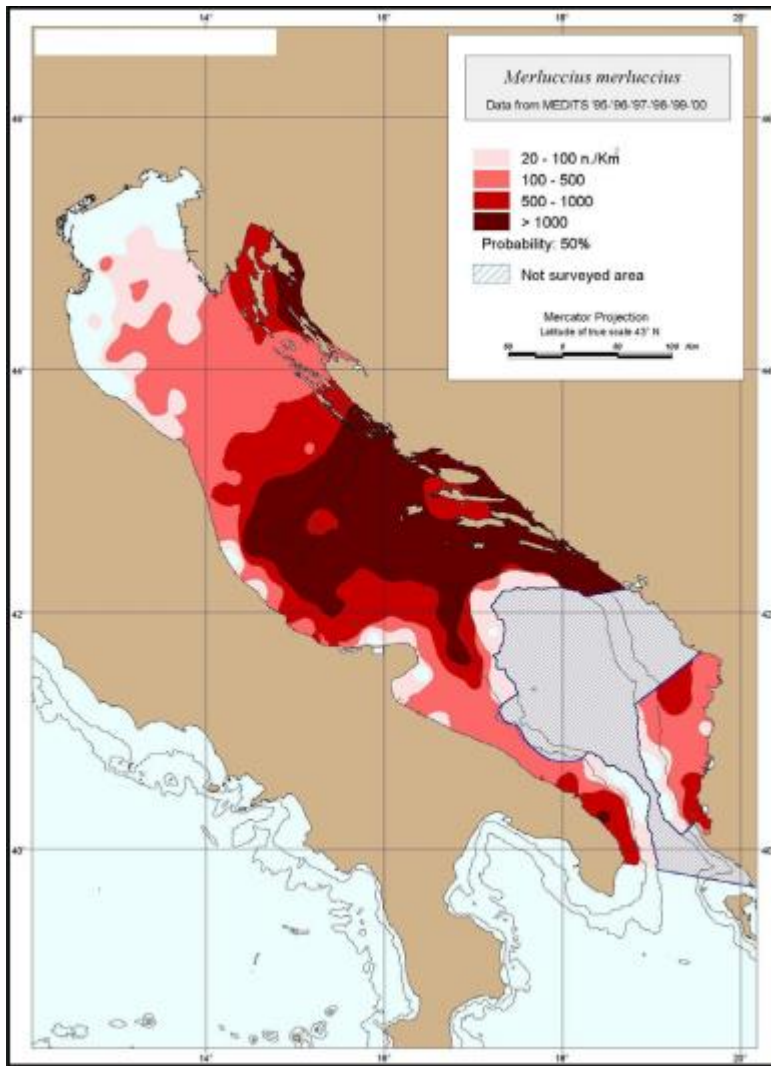


Figura 3 – Distribuzione del *Merluccius merluccius* in Mare Adriatico

Il nasello si riproduce durante tutto l'anno ma con differenti intensità. I picchi di deposizione delle uova hanno luogo in inverno ed estate. In inverno si riproduce in zone ben definite e comunque sempre in acque profonde tra 100 e 300 m (Fischer *et al.*, 1987), mentre nel periodo tra la primavera e l'estate la deposizione delle uova ha luogo in acque meno profonde. Gli stadi post-lavarli e le larve, che alla schiusa misurano circa 3 mm, sono rinvenuti nel plancton soprattutto in inverno e primavera. Le aree di nursery sono situate a profondità elevate come presso la fossa di Pomo (fra

150 e 260 m); in questa zona infatti si evidenzia una permanenza di piccoli naselli durante tutto l'anno. I giovanili, raggiunta la taglia di 15 cm, migrano verso zone meno profonde dove le condizioni ambientali sono migliori e si ridistribuiscono in tutto l'Adriatico centro-settentrionale.

Raggiunta la maturità sessuale (lunghezza totale di 20-28 cm per i maschi e 23-33 cm per le femmine) migrano di nuovo verso acque più profonde per riprodursi (Bombace e Lucchetti, 2011).

### 1.1.3- Pesca e Regolamentazioni

Il nasello rappresenta uno dei pesci di maggiore importanza commerciale, catturato soprattutto con reti a strascico (Figura 4), ma anche con palangari di profondità. Ciò è testimoniato dal fatto che è reperibile nei nostri mercati praticamente tutto l'anno, perché grazie alle sue caratteristiche etologiche, riesce a mantenere una popolazione relativamente abbondante. Infatti, gli adulti, rimanendo a profondità molto elevate nelle conche fangose delle falesie sommerse, possono sfuggire alla cattura dello strascico, assicurando un costante recupero della popolazione (Bombace e Lucchetti, 2011).

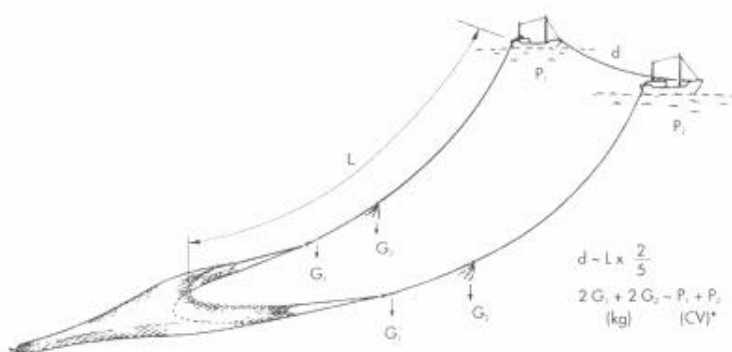


Figura 4 - Rete a strascico (FAO, 1990 guida pratica del pescatore)

Questa specie è minacciata, soprattutto in Adriatico, dalla recente diffusione della pesca con i palangari di profondità, che catturano soprattutto gli adulti, ma anche dalla pesca a strascico che, con le moderne innovazioni tecnologiche, consente di utilizzare zone un tempo non battute, come le aree di riproduzione. Una parte delle catture proviene anche dalle reti da posta, sebbene le operazioni per liberare i naselli impigliati coi denti al filato sottile delle reti, siano alquanto complicate (Bombace e Lucchetti, 2011). In base al Reg. CE 1967/2006, relativo alle misure di gestione per lo sfruttamento sostenibile delle risorse della pesca nel Mar Mediterraneo, la taglia minima di cattura e commercializzazione è fissata a 20 cm.

La produzione mondiale ed europea di nasello è stata altalenante, a differenza della produzione italiana che dagli anni 2000 fino al 2005 è cresciuta da 9220 tonnellate fino a 15397 tonnellate, come mostrato dalla Tabella 2.

Tabella 2 - Produzione (pesca) del nasello espressa in tonnellate (Elaborazione personale dati FAO)

	<b>ANNO</b>					
	<b>2000</b>	<b>2001</b>	<b>2002</b>	<b>2003</b>	<b>2004</b>	<b>2005</b>
<b>Produzione mondiale</b>	71.919	57.914	66.503	72.910	81.168	88.982
<b>Produzione europea</b>	65.675	49.551	56.549	58.150	67.078	76.249
<b>Produzione italiana</b>	9.220	9.304	9.918	10.759	10.303	15.397

Gli indici di abbondanza e di biomassa, pur fluttuando in maniera ciclica, mostrano nell'insieme una significativa diminuzione del numero tra il 2012 e il 2014 (Fig. 5)

(Piccinetti et al., 2012). Questo probabilmente è dovuto al fatto che aumentando il pescato diminuisce la biomassa disponibile.

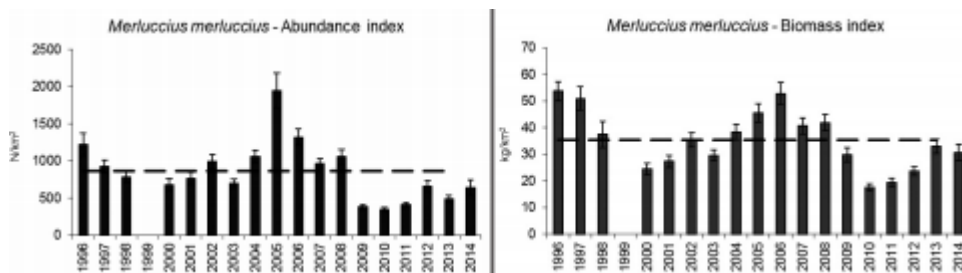


Figura 5 –Indice di abbondanza e di biomassa del *Merluccius merluccius* nel Mar Adriatico

La pesca infatti ha continuato a mostrare un andamento negativo caratterizzato principalmente dalla tendenza al deterioramento degli stock ittici (mitigata da episodici miglioramenti degli indici di abbondanza e densità per talune specie), dalla consistente riduzione della flotta da pesca e dell'occupazione, dalla diminuzione delle quantità sbarcate, dal consistente aumento dei costi di produzione (solo in parte mitigato dal positivo andamento dei prezzi) e dall'andamento negativo dei redditi degli operatori (Ministero Politiche agricole, alimentari, forestali, 2007).

Nell'Adriatico centrale lo stock è composto prevalentemente da individui di 2 anni di età. Negli ultimi anni è stata riscontrata una generale tendenza al sovrasfruttamento (in particolare da parte dello strascico) e i pescatori stessi sempre più spesso denunciano la riduzione delle catture di nasello da un anno all'altro, con un picco negativo che sembra essersi verificato nei primi mesi del 2011. Sarebbe necessario quindi una considerevole riduzione dello sforzo di pesca in maniera particolare verso gli adulti riproduttori

poiché il successo di questa specie sembra esser legato alla protezione delle zone profonde in cui i grandi riproduttori si spostano nel corso della loro vita, essendo una *deep water refugia species*.

### 1.1.4 – caratteristiche nutrizionali del *Merluccius merluccius*

COMPOSIZIONE CHIMICA E VALORE ENERGETICO DEGLI ALIMENTI PER 100 g DI PARTE EDIBILE																						
Numero codice	Alimenti	Parte Edibile	Acqua	Proteine	Lipidi	Carboidrati	Amido	Zuccheri Solubili	Fibra totale	Energia	Sodio	Potassio	Ferro	Calcio	Fosforo	Thiamina	Riboflavina	Niacina	Vit. A ret. eq.	Vit. C	Vit. E	
		%	g	g	g	g	g	g	g	g	kcal	kJ	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	µg	mg	mg
121330	ammollato	85	76,1	20,7	0,9	0,3	0	0,3	0	92	385	51	340	0,6	9	163	0,01	0,08	1,00	0	0	
121410	Merluzzo o nasello, fresco	76	71,5	17,0	0,3	0	0	0	0	71	296	77	320	0,7	25	194	0,05	0,08	2,20	tr	tr	
121420	surgelato	75	80,8	17,3	0,6	0	0	0	0	75	312	77	320	0,6	30	188	0,03	0,12	1,20	0	tr	
121423	surgelato, cotto al forno	75	76,8	20,9	0,9	0	0	0	0	92	384	80	328	1,0	36	202	0,05	0,07	2,20	tr	0	
121424	cotto al microonde	75	72,2	24,8	0,9	0	0	0	0	107	449	82	330	1,0	37	200	0,06	0,08	2,22	tr	0	
121430	filetti	100	83,9	15,6	0,6	0	0	0	0	68	284	68	310	0,3	11	160	0,06	0,05	1,90	0	0	
121450	beccaficchi ammollato	82	75,6	21,6	1,0	0	0	0	0	95	399			2,3	31	562	0,05	0,28		0	0	
121440	secco	75	52,4	29,0	1,7	0	0	0	0	131	549					224					0	
121490	battoncini pesca impantiti surg.	100	61,5	11,0	10,1	15,0	13,0	0,6	0	191	800			0,7	4,6	168	0,08	0,07	0,30	0	1	

Figura 6 - composizione chimica e valore energetico del *Merluccius merluccius* (INRAN)

Il nasello fresco è un pesce magro ideale per chi segue una dieta ipocalorica (e deve assumere poche calorie). I valori nutrizionali per 100 grammi di parte edibile sono circa 70 g di acqua, 17 g di proteine, 0.3 g di lipidi. Non presenta carboidrati né amido né fibra totale, ed ha un apporto 71 kcal (296kj). Presenta inoltre anche diversi livelli di micronutrienti; in particolare è un'ottima fonte di potassio (320 mg) e fosforo (194 mg).

Le sue carni sono molto ricercate per essere consumate sia fresche che dissecate, infatti sono particolarmente magre e ben digeribili, indicate nella dieta Mediterranea in quanto forniscono un buon apporto proteico oltre a contenere buone quantità di fosforo e potassio.

## **1.2- La triglia - *Mullus barbatus***

È una specie appartenente alla famiglia *Mullidae* che comprende specie morfologicamente simili tra loro diffuse sia nei mari tropicali che in quelli temperato-caldi. Nel Mediterraneo sono presenti due generi, *Upeneus* e *Mullus*; il primo è distribuito esclusivamente lungo le coste del bacino orientale (Turchia, Siria, Israele, Egitto) e proviene dal Mar Rosso attraverso il Canale di Suez. Nei mari italiani è presente solo il genere *Mullus*, rappresentato da due specie: *Mullus barbatus*, la triglia di fango (Figura 7) e il *Mullus Surmuletus*, la triglia di scoglio (Bombace G. e Lucchetti A., 2011).

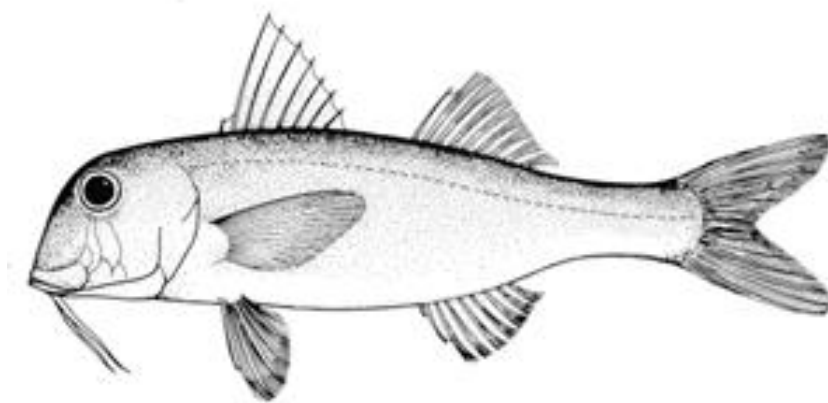


Figura 7 - *Mullus barbatus* (FAO)

### **1.2.1- Morfologia**

La caratteristica principale delle specie appartenenti al genere *Mullus* è la presenza di due lunghi barbigli a funzione tattile e olfattiva, per individuare le prede all'interno del sedimento e che, in fase di riposo, possono essere nascosti in un solco sotto la mandibola. La triglia possiede una testa abbastanza grande rispetto al corpo, e una bocca piccola che si apre orizzontalmente nella parte inferiore. L'occhio si trova nella parte alta del capo ed il suo diametro è pari circa la metà del muso (Tortonese, 1975).



I denti sono villiformi, sottili e serrati; non sono presenti incisivi, canini e molari (Bini, 1968-70). Presentano poi due pinne dorsali ben distanziate e corte, una pinna caudale omocerca forcuta e due pinne pettorali ben sviluppate. Il corpo è ricoperto da scaglie grandi, i ctenoidi (squame munite di minuscoli dentelli). Presenta una colorazione rosata con macchie rossastre, e bande gialle, appena accennate. La livrea di questa specie varia a seconda dell'intensità luminosa e delle reazioni dell'animale agli stimoli esterni (predatori, prede, torbidità improvvisa ecc.). Tuttavia, la triglia, in acqua, sembra avere un colore completamente diverso, mentre fuori dall'acqua, a causa dei processi ossidativi, acquisisce una colorazione rosata (Vrgoč *et al.*, 2004).

La triglia di fango può raggiungere una taglia di 30 cm sebbene raramente superi i 20 cm (Soljan, 1975; Fischer *et al.*, 1987), taglia entro cui generalmente viene catturata. In media, le femmine hanno una lunghezza del corpo maggiore rispetto ai maschi (Jardas, 1996), perché crescono più velocemente nel loro primo anno di vita, per cui quasi tutti gli individui più grandi intorno ai 20 cm, come quello in figura 8, risultano essere femmine (Vrgoč *et al.*, 2004).



Figura 8 - Esemplare di adulto femmina catturata nella campagna MEDITS 2015

### ***1.2.2- Abitudini di vita***

*Mullus barbatus* è una specie bentonica, gregaria, che vive a profondità comprese tra i 10 e 500 m (Fig. 9), anche se in genere è più comune tra i 20-300 m su fondi sabbiosi e fangosi in cui frugano con i barbigli per trovare le prede (Fischer et al., 1987). Si ciba principalmente di piccoli invertebrati che vivono sulla superficie o all'interno del fondale (Lombarte et al., 2000). Studi sui contenuti stomacali di *Mullus barbatus* in Alto-Medio Adriatico, rivelano infatti un'alimentazione costituita prevalentemente da crostacei (soprattutto i taxon Amphipoda e Copepoda Harpactycoida), policheti e molluschi bivalvi seguiti poi da una serie di prede secondarie come foraminiferi, poriferi, nematodi, sipunculidi ed echinodermi (Vallisneri et al., 2006). La triglia si riproduce nel periodo Aprile - Luglio, generalmente ad alcune miglia dalla costa, su fondali sabbiosi o fangosi, che possono arrivare fino a 100 m, dove gli adulti migrano quando la temperatura dell'acqua sotto costa diviene troppo bassa (Gramitto, 2001).

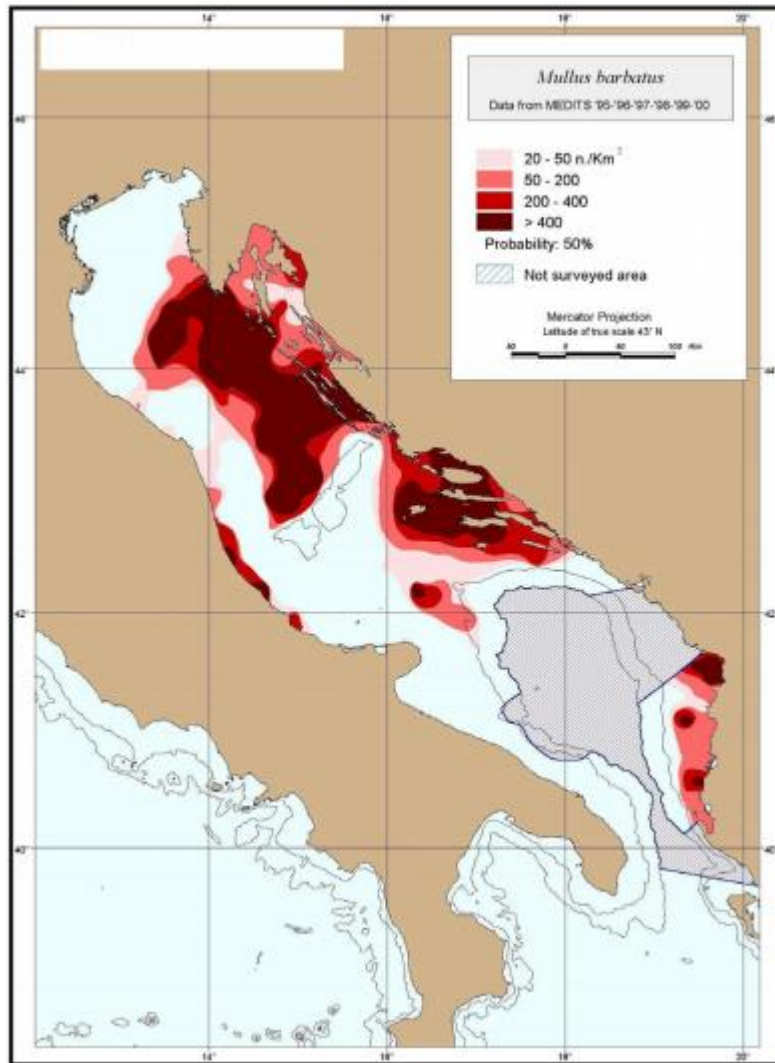


Figura 9 - distribuzione di *Mullus barbatus* nel Mar Adriatico (Sabatella e Piccinetti, 2005)

Gli stadi larvali, post-lavarli e i giovanili, fino ad una lunghezza di 4 cm, conducono una vita pelagica e hanno una colorazione azzurra. Nel periodo successivo, si avvicinano alla costa, dove trovano le condizioni ambientali idonee (temperatura ideale e disponibilità di cibo) per accrescersi, assumendo abitudini demersali e cambiando gradualmente la livrea, dall'azzurro al verde, al rossiccio, fino ad assumere la colorazione definitiva. In una prima fase i giovanili oltre a concentrarsi in aree sabbiose costiere per poi disperdersi sui fondi di ghiaia e fango compresi tra i 10 e i 250 m, si riuniscono nei pressi delle foci dei fiumi, zone molto ricche di nutrienti (Scaccini,

1947). Nel periodo tardo estivo le giovani triglie migrano verso il largo, sempre su fondali sabbiosi o fangosi per unirsi allo stock degli adulti (reclutamento).

La crescita mostra alcune diversità per i due sessi: le femmine crescono più velocemente e possono raggiungere 28-29 cm di lunghezza mentre al contrario i maschi raramente superano i 20 cm; inoltre l'accrescimento di questa specie è pressoché nullo nel periodo invernale (Scaccini, 1947; Levi, 1992).

### ***1.2.3- Pesca e regolamentazioni***

La triglia di fango rappresenta una delle più importanti specie in termini di quantitativi sbarcati, e viene catturata principalmente con reti a strascico e, in misura minore, con reti da posta. La triglia viene pescata per tutto l'arco dell'anno, con un picco a fine estate-inizio autunno. Infatti, questo periodo coincide con la migrazione costa-largo delle giovani triglie per unirsi alla popolazione degli adulti (reclutamento), e quindi facilmente disponibili alla pesca a strascico. È proprio in questi mesi che i pescherecci a strascico sono in grado di catturare triglie di fango in quantità tali (100-200 kg/ora) da determinare una consistente mortalità da pesca a livello di reclute (Growth overfishing), con conseguenze che si possono considerare deleterie per tutta la popolazione (Bombace e Lucchetti, 2011). Il rendimento della pesca di *Mullus barbatus* in Italia era di 20.114 t nel 1982, delle quali 13.886 erano catture avvenute nel Canale di Sicilia, mentre i dati ufficiali risalenti ai primi anni 2000 hanno indicato un calo delle catture nazionali a 10.708 t, delle quali solo 1.126 provengono dal Canale di Sicilia (Sonin et al., 2007). Per lo strascico marchigiano il contributo alle triglie di

fango è pari al 17% del pescato e si stimano livelli di produzione superiori alle 900 tonnellate, valore secondo solo a quello della flotta pugliese. In Mediterraneo la taglia minima di cattura per le specie del genere *Mullus* è stabilita in 11 cm in base al Reg. CE 1967/2006 e la taglia minima delle maglie delle reti da pesca a 40 mm per le maglie quadrate e a 50 mm per le maglie rombiche (Sieli et al., 2011).

La taglia minima viene definita come la lunghezza approssimativa del pesce giunto a maturità sessuale (Neumann et al., 2012) e che quindi si è già almeno riprodotto una volta.

La triglia è una specie migratoria ampiamente diffusa nell'intero Adriatico. Durante la stagione di svolgimento delle campagne MEDITS, hanno visto che l'abbondanza e la biomassa della specie sono maggiori lungo la parte orientale (Piccinetti et al., 2012). Il MedITS (Mediterranean International Trawl Survey) è un programma di ricerca di pesca a strascico internazionale, che si effettua sia sulla platea continentale che sulla scarpata, da 10 a 800 metri di profondità, ideato per fornire le informazioni di base sulle risorse demersali nel Mar Mediterraneo, in termini di distribuzione e di struttura demografica delle popolazioni. Attualmente vi partecipano 11 nazioni. (Relini et al., 2008).

La popolazione mostra delle fluttuazioni, ma l'andamento generale, sia in numero che in peso, è significativamente in aumento, con notevole incremento dal 2012 al 2014 (Fig. 10).

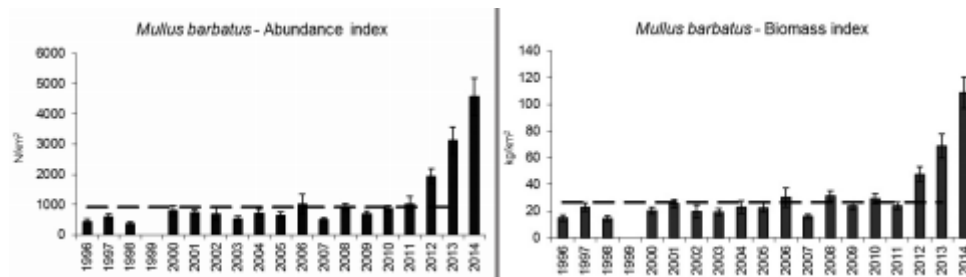


Figura 10 – Indice di abbondanza e di biomassa di *Mullus barbatus* nel Mar Adriatico (Piccinetti et al., 2012).

Nei periodi estivi e autunnali, i giovani esemplari sono dominanti nella popolazione. L'analisi dei dati di frequenza di lunghezza ha mostrato una presenza massiccia di nuovi arrivati durante le indagini autunnali e, durante le indagini primaverili, un modesto numero di individui di età vicina a un anno (Piccinetti e Manfrin, 1994; Ungaro et al., 1996). I pesci di età superiore a un anno sono sempre stati una parte minore del pescato (circa il 5% autunno e 20% in primavera) nelle indagini effettuate in primavera ed autunno (Relini et al., 1999). Le triglie rappresentano una delle specie target della pesca a strascico. Il caratteristico comportamento delle triglie di fango di concentrarsi con gli esemplari appena reclutati nelle aree costiere, determina una elevata disponibilità alla pesca a strascico degli individui giovanili che in Italia si è tentato nel tempo di contrastare con varie misure gestionali, come il divieto di pesca entro le tre miglia (area dove si concentrano i giovanili), l'aumento della dimensione delle maglie a 40 mm ed infine l'applicazione del fermo di pesca (tardo estivo-autunnale) in corrispondenza della comparsa delle nuove reclute. Quest'ultimo sarebbe

ancora più efficace se fosse accompagnato da ulteriori restrizioni che limitino lo sforzo di pesca nel periodo immediatamente successivo al fermo.

A seconda delle annate e del successo della riproduzione nel periodo agosto-ottobre, questa specie può rappresentare in peso dal 60% al 90% della cattura totale ottenibile entro la fascia costiera (Froggia, 1984) e l'Adriatico si conferma come la zona a maggiore produzione della specie (60% del totale, dati IREPA 2007). Per lo strascico marchigiano il contributo alle triglie di fango è pari al 17% del pescato e si stimano livelli di produzione superiore alle 900 tonnellate, valore secondo solo a quello della flotta pugliese (dati IREPA, 2007).

#### *1.2.4 - Caratteristiche nutrizionali della triglia di fango*

La triglia rientra nelle 10 specie di pesce fresco di più ampio consumo in Italia, in particolare al sud della penisola dove i principali mercati della specie sono Cagliari e Roma.

La Triglia non è un pesce particolarmente “magro”, è classificata dall'Istituto Nazionale della Nutrizione come pesce semigrasso e discretamente digeribile: possiede, infatti, un più alto contenuto di lipidi rispetto al nasello (circa 6.2 g per una porzione di 100 grammi), presenta circa il 75 g di acqua e 1.1 g di carboidrati (amido). Il suo apporto calorico, pari a 123kcal (515kj), è comunque ben controbilanciato da un elevato contenuto di proteine, 15.8 g, e dalla presenza di altri preziosi componenti quali

ferro, calcio, fosforo (218 mg) e vitamine tra cui 4.40 µg di vitamina A retinolo equivalente (Figura 11).

Composizione chimica	valore per 100g
Parte edibile (%):	60
Acqua (g):	75.3
Proteine (g):	15.8
Lipidi(g):	6.2
Colesterolo (mg):	78
Carboidrati disponibili (g):	1.1
Amido (g):	0
Zuccheri solubili (g):	1.1
Fibra totale (g):	0
Fibra solubile (g):	0
Fibra insolubile (g):	0
Alcol (g):	0
Energia (kcal):	123
Energia (kJ):	515
Sodio (mg):	
Potassio (mg):	
Ferro (mg):	1.1
Calcio (mg):	21
Fosforo (mg):	218
Magnesio (mg):	30
Zinco (mg):	2.4
Rame (mg):	0.24
Selenio (µg):	30
Tiamina (mg):	0.07
Riboflavina (mg):	0.07
Niacina (mg):	4.2
Vitamina A retinolo eq. (µg):	9

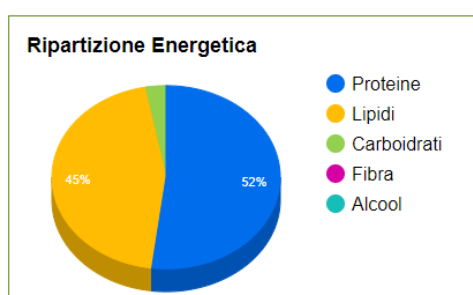


Figura 11 - Tabella nutrizionale della parte edibile di *Mullus barbatus* e ripartizione energetica dei macronutrienti(<https://www.crea.gov.it/>).

Gli elevati quantitativi di zinco (particolarmente importante nella biosintesi di aminoacidi e proteine e per il funzionamento di alcuni organi, oltre a essere essenziale



per i processi di crescita, di riparazione dei tessuti e per lo sviluppo sessuale), selenio (sostanza antiossidante e dalle proprietà anticancro), ferro (indispensabile per una corretta ossigenazione di tutti i tessuti dell'organismo) e fosforo (importante per la sua partecipazione ai processi energetici dell'organismo) contraddistinguono questo pesce dal punto di vista del contenuto minerale.

L'Autorità europea per la Sicurezza alimentare (European Food Safety Authority, EFSA) raccomanda di mangiare pesce due-tre volte a settimana, cercando di variare spesso le specie e limitando il consumo di pesci che potrebbero contenere una maggiore concentrazione di metilmercurio. Rinunciare completamente al pesce è un'esagerazione e non è affatto conveniente per la salute: questo alimento è ricco di proteine ad alto valore biologico (rappresentano il 15-20% della sua composizione e sono più digeribili rispetto a quelle della carne), è un'ottima fonte di vitamine del gruppo B, D e A, di sali minerali essenziali come potassio, fosforo, calcio, ferro, e soprattutto di grassi polinsaturi Omega-3, importantissimi per la salute del cuore, per proteggere l'organismo dai radicali liberi e per migliorare le funzioni cognitive.

### ***1.3- Consumo di pesce in Italia***

Il consumo di pesci e molluschi rappresenta un elemento fondamentale della dieta umana in molte parti del mondo, e sta imponendosi per quote crescenti anche in paesi tradizionalmente meno dipendenti da questa fonte alimentare. Pur restando al di sotto della media europea, negli ultimi 25 anni in Italia il consumo giornaliero pro capite di

prodotti ittici è quasi raddoppiato, passando dai 13 kg degli anni '80 a circa 21 kg, a fronte di oltre 55 kg consumati dai Finlandesi e degli oltre 105 kg annui dei Giapponesi (dati Federalimentari, 2007).

Dall'analisi dei consumi delle famiglie per tipologie di prodotti ittici emerge che, rispetto al 2005, è aumentata in Italia la domanda di prodotti congelati/surgelati confezionati (+6.2% in volume e +4.9% in valore) e di quelli secchi, salati e affumicati sfusi e confezionati (+4.6% in volume e +14% in valore) (ISMEA, 2013). In particolare, si è visto come ci sia un incremento delle richieste dei preparati surgelati come i bastoncini (+2.8%) e i filetti di merluzzo impanati (+16.9%).

Infine, per quanto riguarda la tipologia del fresco e scongelato sfuso, c'è stata una flessione in negativo per quanto riguarda il volume (-2.4%) e positiva per quanto riguarda il valore (+5%). La flessione negativa ha interessato, fra i prodotti naturali, i consumi di pesce d'acqua dolce (-8.8% in quantità), di crostacei (-7%) e di molluschi (-4.5%), mentre l'aumento delle richieste di pesce di mare è stato di appena lo 0.9%.

La crescita tendenziale riscontrata per gli acquisti di pesce di mare è riconducibile alla maggiore domanda, rispetto allo stesso periodo del 2005, di palombi (+30.3%), pesce spada (+13.1%), spigole (+12.5%), sardine (+6.6%), merluzzi e naselli (+4.8% e +6.9%, rispettivamente). Fra le diminuzioni si segnalano il -30.6% per le triglie, il -7.8% per le sogliole e il -1.2% per le alici (ISMEA 2013).

Inoltre, una parte cospicua del pesce che consumiamo è costituita da alimenti salati e/o essiccati, come baccalà e stoccafisso, oppure in conserva, come il tonno. Si stima che

solo il 30% dei consumi ittici degli Italiani sia formato da prodotto fresco e di questa quota una parte consistente è formata da molluschi bivalvi che, per consuetudine difficile da eradicare, sono consumati sovente crudi o poco cotti.

#### ***1.4- Metalli pesanti***

Dei 94 elementi presenti in natura, 70 sono metalli, ampiamente definiti come elementi che sono buoni conduttori di elettricità e calore, che formano cationi per perdita di elettroni e che producono ossidi e idrossidi di base. Pochi altri, tra cui Se e As, sono metalli onorari ("metalloidi"), che condividono alcune ma non tutte le proprietà dei metalli veri (Duffus, 2002; Hodson, 2004). Operativamente, dunque, i metalli pesanti includono sia gli elementi di transizione (Gruppi VI B, VII B, VIII B, I B, II B della tavola periodica), sia quegli elementi dei Gruppi III A e IVA con caratteristiche tipiche dei metalli e persino alcuni con caratteristiche di non metalli, come per esempio arsenico (As) e selenio (Se) (Fig.12).

Tra i metalli pesanti (heavy metals), ci sono elementi caratterizzati da potenziale tossicità ed ecotossicità, anche se presenti in concentrazioni molto basse.

I metalli pesanti, essendo sostanze xenobiotiche, sono riconosciuti come tali dall'organismo e possono essere soggetti a bioaccumulo e biomagnificazione.

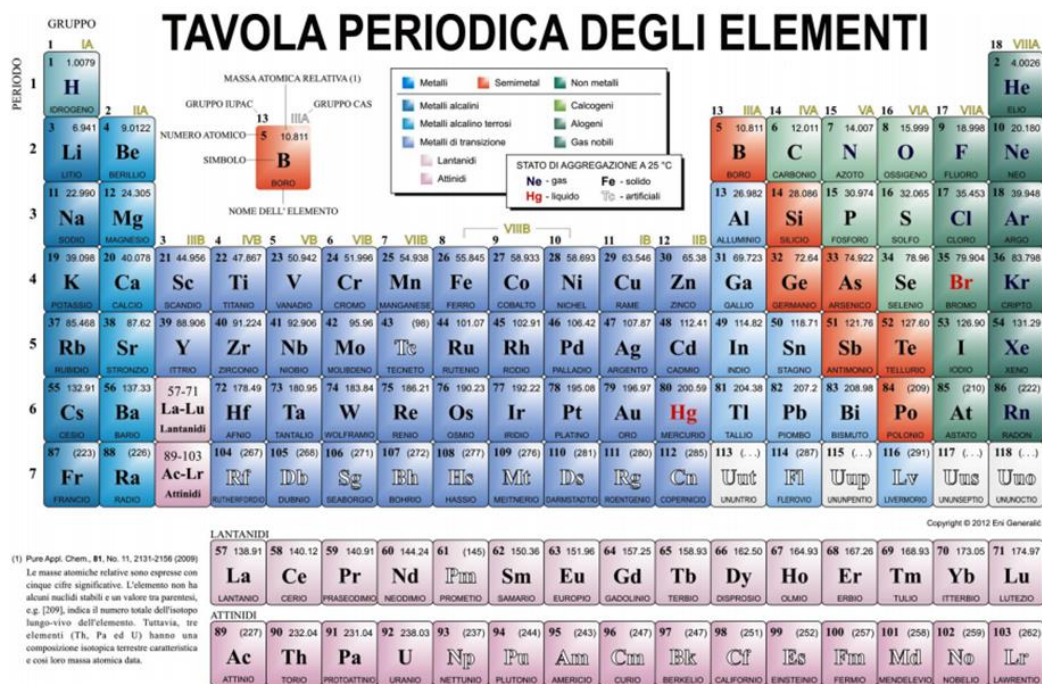


Figura 12 – Tavola periodica degli elementi

Il bioaccumulo è definito come l'assorbimento di una sostanza chimica da parte di un organismo dall'ambiente abiotico o biotico. Una volta che i contaminanti si trovano all'interno di un organismo, possono essere metabolizzati e/o escreti in modo che la concentrazione sia in equilibrio tra assunzione ed escrezione (Diener et al., 2015).

La biomagnificazione è il processo in cui le sostanze xenobiotiche vengono trasferite dal cibo a un organismo con concentrazioni risultanti più elevate rispetto alla fonte, pertanto il metallo presenta concentrazioni che aumentano lungo la catena trofica. La biomagnificazione non è una costante negli ecosistemi marini. In genere i metalli vengono eliminati facilmente dagli organismi, non accumulandosi nè biomagnificando lungo la catena trofica. Solo il mercurio organico dimostra evidenze di non eliminazione (Gray, 2002).

I metalli sono costituenti naturali della biosfera. I metalli pesanti nell'ambiente acquatico possono rimanere in soluzione o in sospensione, precipitare nel fondo o essere ingeriti dagli organismi marini. L'assorbimento dall'ambiente circostante di metalli pesanti da parte del pesce dipende da molti fattori, come ad esempio le caratteristiche della specie, la concentrazione di metalli nell'acqua e il periodo di esposizione; può dipendere anche da fattori abiotici quali temperatura, salinità, pH e cambiamenti stagionali (Ginsberg and Toal 2009; Has-Schon et al. 2006).

Metalli come ferro, rame, zinco e manganese sono essenziali e giocano un ruolo importante nell'attività biologica, a differenza di mercurio, piombo e cadmio che sono tossici, anche in tracce. Il Regolamento dell'Unione Europea 1881/2006 e successive modifiche, relativo ai contaminanti nelle derrate alimentari, riporta i limiti di legge per alcuni metalli molto tossici, quali piombo (Pb) e mercurio (Hg) e, addirittura, cancerogeni, quali Cd, e As .

#### ***1.4.1- Mercurio***

Il mercurio è un elemento chimico con simbolo Hg (deriva dalla parola hydrargyrum, latinizzazione del termine greco ὕδραργυρος (hydrargyros), parola composta dai termini corrispondenti ad "acqua" e "argento") e peso atomico 80 (Fig.13).



*Figura 13 – Elemento chimico mercurio*

È un metallo non di transizione appartenente al gruppo 12 (IIB) della tavola periodica con proprietà uniche: è liquido a temperatura ambiente e i suoi legami deboli Hg-Hg determinano una bassa temperatura di fusione ( $38.91^{\circ}\text{C}$ ) e di ebollizione ( $365.581^{\circ}\text{C}$ ) ed un'elevata volatilità ( $0.0002\text{ Pa}$ ) rispetto ad altri metalli. Ha tre stati principali di ossidazione (0, +1, +2, +3) e sette isotopi stabili ( $^{196}\text{Hg}$ ,  $^{198}\text{Hg}$ ,  $^{199}\text{Hg}$ ,  $^{200}\text{Hg}$ ,  $^{201}\text{Hg}$ ,  $^{202}\text{Hg}$ ,  $^{204}\text{Hg}$ ), dei quali il  $^{202}\text{Hg}$  e il  $^{200}\text{Hg}$  sono i più comuni nell'ambiente.

I depositi di mercurio hanno avuto accesso agli umani per decenni perché le proprietà uniche del metallo lo rendono utile per applicazioni industriali, medicinali, artistiche e agricole. Viene usato nei termometri, barometri, sfigmomanometri, coulombometri, pompe a diffusione e molti altri strumenti da laboratorio, scelto perché liquido, opaco e di alta densità. Tra i suoi impieghi in campo elettrico ed elettronico rientrano la realizzazione di interruttori, elettrodi, pile. In campo medico, l'amalgama di mercurio con altri metalli è usato per realizzare le otturazioni dentali. Nell'industria chimica il mercurio (nelle cosiddette "celle a mercurio") si utilizza per condurre l'elettrolisi di cloruro di sodio in acqua, come componente del liquido di raffreddamento in alcuni

tipi di centrale elettronucleare e per realizzare telescopi a specchio liquido. Inoltre i vapori di mercurio sono utilizzati in diversi tipi di lampade a fluorescenza.

Il mercurio trova anche largo utilizzo nella purificazione di oro e argento, attraverso la sua capacità di formare amalgame con questi metalli preziosi, sebbene questo metodo di purificazione sia altamente inquinante e nocivo per l'ambiente e i minatori stessi. In campo medico, il cloruro mercurioso (noto anche come "calomelano") è stato usato tradizionalmente come diuretico, disinfettante locale e lassativo. Il cloruro mercurico (o "sublimato corrosivo") era usato anch'esso come disinfettante, nonché nel trattamento della sifilide, anche se gli effetti collaterali erano tali da andare a confondersi con i sintomi della malattia stessa. Disinfettanti locali per uso esterno a base di sali di mercurio (ad esempio il "Mercurocromo") trovano ancora impiego in numerose nazioni, benché in altre siano stati messi al bando.

Oltre al mercurio come tale, numerosi suoi composti chimici vengono usati come catalizzatori, coloranti, insetticidi, erbicidi e farmaci, anche se al giorno d'oggi molti di questi composti sono stati vietati poiché altamente tossici (WHO, 2010).

#### ***1.4.2- Ciclo biogeochimico***

Il mercurio nell'ambiente partecipa ad un complesso ciclo biogeochimico che coinvolge tutte le sfere geochimiche, in cui il bilancio tra le forme ridotte ed ossidate dell'elemento dipende dalle reazioni di ossidoriduzione nei vari ecosistemi.

Nella crosta terrestre la concentrazione del mercurio è di circa 0.05 ppm (Parsons and Percival, 2005) e l'elemento è presente in una varietà di forme differenti (Rytuba, 2005). In ambiente acquatico invece il mercurio è presente in tre forme: mercurio inorganico elementare ( $Hg^0$ ), mercurio inorganico ossidato [ $Hg^{2+}$ , o  $Hg(II)$ ], e mercurio organico  $CH_3Hg^+$  [metilmercurio o  $MeHg(I)$ ]. Il ciclo acquatico comprende la formazione di metilmercurio ( $CH_3Hg$ ) a partire da mercurio inorganico divalente ( $Hg^{2+}$ ), l'accumulo del metilmercurio negli organismi viventi e nella rete trofica, ed i processi di demetilazione. Nella colonna d'acqua  $Hg^{2+}$  può, inoltre, essere ridotto attraverso processi abiotici (fotoriduzione) e biotici (mediante l'intervento di organismi procariotici ed eucariotici). Alcune specie chimiche che si vengono a formare (principalmente  $Hg^0$ ) si volatilizzano in atmosfera (Fitzgerald et al., 1991). Nel ciclo atmosferico si realizza, la conversione del mercurio inorganico divalente alle forme volatili del mercurio elementare ( $Hg^0$ ) e/o del dimetilmercurio ( $(CH_3)_2Hg$ ), che si diffondono in atmosfera; segue la riossidazione atmosferica del Hg che ricade sulle superfici acquatiche e terrestri attraverso le deposizioni secche e umide (Lindqvist, 1994). Il mercurio così ridepositato o trasportato sulle superfici acquatiche riprende il ciclo (Figura 14).



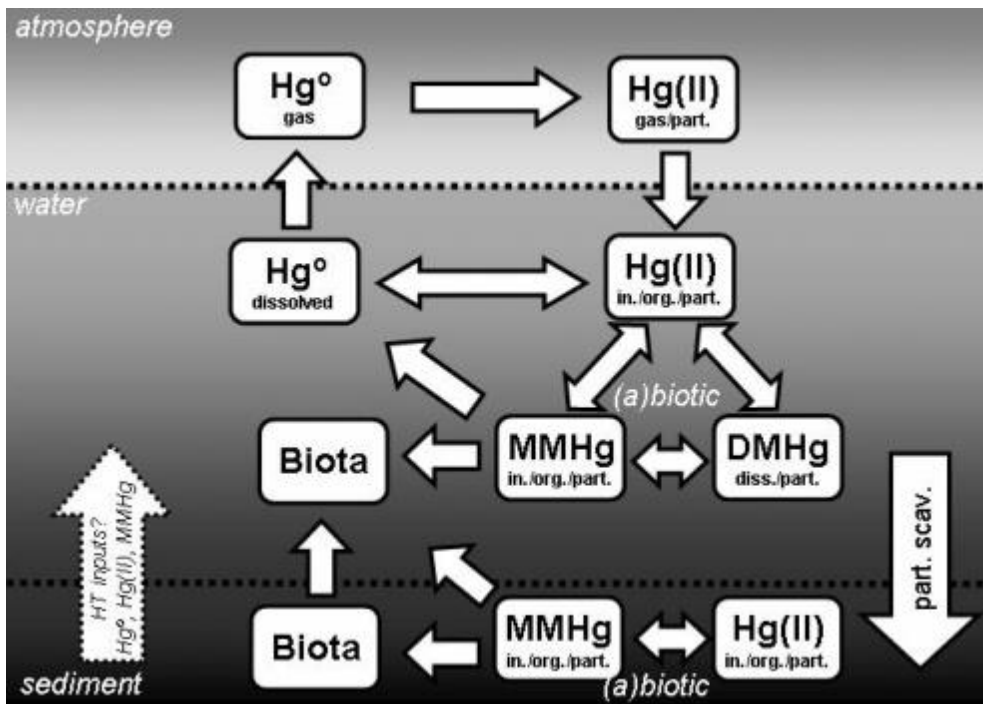
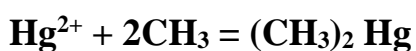


Figura 14 – Ciclo biogeochimico del mercurio

Le specie di mercurio più tossiche per gli esseri viventi sono rappresentate dalla forma elementare ( $\text{Hg}^0$ ), e dal monometilmercurio ( $\text{CH}_3\text{Hg}$ ). Il primo entra nell'organismo attraverso gli alveoli polmonari e si dissolve nel plasma (Clarkson, 1997). Nelle cellule  $\text{Hg}^0$  è ossidato ad  $\text{Hg}^{2+}$  che, così intrappolato, raggiunge il cervello molto lentamente (Lipfert et al., 1995).

La sintesi di metilmercurio avviene principalmente ad opera di microorganismi solfato riducenti (Benoit et al., 2003) a partire dal mercurio inorganico divalente mediante intercessione della meticolabammina (B12), un catalizzatore naturale presente nei solfo batteri, e acidi umici.



Il dimetilmercurio a pH acido si trasforma in monometilmercurio ( $\text{CH}_3\text{Hg}$ ), per demetilazione del dimetilmercurio.

La massima intensità del processo di metilazione si verifica nei primi 10 cm di sedimento, e nel primo centimetro tutto il mercurio è presente in forma metilata. Infatti, dato che l'attività batterica aumenta all'aumentare della temperatura e della presenza di carbonio organico biodegradabile, la velocità di metilazione tende ad essere maggiore nello strato superficiale dei sedimenti, in cui si trova materiale organico depositato in tempi recenti (Friberg et al, 1986).

#### *1.4.3 - Mercurio e mar Adriatico*

L'Adriatico ha un volume di circa 1/125 rispetto a quello del Mediterraneo, ma riceve 1/3 degli apporti fluviali di questo bacino, di cui l'85% è immesso nell'Adriatico settentrionale; questi apporti sono dovuti all'immissione del Po, dell'Adige, del Brenta e del Reno i cui bacini idrografici coprono un 'area in cui vengono svolte numerose attività industriali, agricole e di acquacoltura. I dati sulle fonti di contaminanti in Adriatico indicano che circa il 50% di tali immissioni è dovuta ad attività industriali mentre il rimanente 50% deriva da attività agricole e insediamenti urbani (Aubert, 1994).

Da un'indagine svolta nel bacino del Mediterraneo è emerso che le categorie principali di contaminanti chimici sono rappresentate dal petrolio e dai suoi derivati, dagli idrocarburi alogenati e dai metalli pesanti (UNEP, 1987).

Sono stati fatti diversi studi per valutare le concentrazioni di diversi inquinanti nel mare Adriatico, tuttavia esistono solo pochi report che riportano le concentrazioni di mercurio nell'ambiente marino. L'UNEP ha valutato che le immissioni di mercurio attraverso i fiumi nel Mar Adriatico sono di 41 tonnellate all'anno (UNEP et al, 1984).

Molti dei lavori sul mercurio sono stati fatti sui sedimenti divisi nelle tre aree del mar Adriatico. In genere, sul versante italiano, i sedimenti costieri sono caratterizzati da materiale grossolano che diventa argilloso e poi sabbioso quando ci si sposta verso est verso il centro del bacino (Colantoni, 1990). I sedimenti costieri sono costituiti principalmente da materiali trasportati nel mare dai fiumi e rielaborati dalle onde a profondità basse. I sedimenti argillosi formano un corpo deposizionale (cintura di fango olocenico) derivante principalmente dalla deposizione di materiali pregiati trasportati dal fiume Po e dai fiumi dell'Appennino. I minerali identificati nei sedimenti riflettono le caratteristiche litologiche e compositive delle loro aree di origine (Tomadin, 2000; Spagnoli et al 2014; Pigorini, 1968; Curzi, 1987).

I dati trovati sulla concentrazione di mercurio dissolto nel sud Adriatico sono compatibili con i dati disponibili in letteratura sulle altre aree del bacino Mediterraneo (Copin-Montegut, 1986; Ferrara et al., 1986, 1990; Ferrara e Maserti, 1988).

Diversi studi su diverse zone del nord Adriatico confermano come questa parte sia quella con più elevata concentrazione di mercurio (fino a  $0.004 \pm 0.001$  mg). Questo incremento di mercurio disciolto potrebbe essere il risultato della degradazione e solubilizzazione del particolato, della risospensione del sedimento e dalla presenza di risorse naturali o antropogeniche di mercurio.

Mentre nella parte meridionale dell'Adriatico sono stati osservati valori comparabili a quelli del bacino del Mediterraneo ( $0.0004 \pm 0.00026$  mg).

I livelli di mercurio nei sedimenti mostrano valori particolarmente alti al largo della foce del fiume Isonzo (8.63 mg/kg dry weight) e della laguna di Marano (7.22 mg/kg dry weight); in queste aree i livelli sono più alti di un ordine di grandezza rispetto alle altre aree di campionamento (Ferrara et al., 1992).

Questo è il risultato delle particolari caratteristiche morfologiche del Nord Adriatico, un mare che è semichiuso e poco profondo, in cui confluiscono i più importanti fiumi italiani.

Altre zone del nord del Mar Adriatico come possibili fonti di mercurio sono il fiume Po e il golfo di Trieste (Covelli et al, 2002). La concentrazione di mercurio nello strato superficiale nella parte centrale del golfo era  $< 0.005$  mg/L mentre concentrazioni maggiori, tra 0.005 e 0.025 mg/L, sono state rilevate nella parte del golfo di fronte al fiume Isonzo.

Elevate concentrazioni di mercurio disciolto nella superficie ( $>0,001$  mg/L) sono dovute probabilmente alla rimobilizzazione dei sedimenti inclusa la risospensione e il riciclo bentonico. La concentrazione di mercurio totale è dieci volte più alta rispetto al mercurio trovato nelle altre due regioni dell'Adriatico (Ferrara e Maserti 1992, Horvat et al. 2001). Una frazione sostanziale del mercurio disciolto nelle acque del golfo di Trieste era associato con il particolato sospeso.

Per l'Adriatico centrale e del sud, le concentrazioni di mercurio sono state divise a seconda della grandezza dei granuli del sedimento (Droghini et al, 2019).

La distribuzione del mercurio nei sedimenti marini dipende sia dalla forma chimica iniziale nelle rocce originali sia dai processi di trasporto e deposizione che controllano la dimensione del grano del sedimento. In particolare, simile ad altri metalli, il mercurio mostra un'elevata affinità per i sedimenti più fini ( $<63$   $\mu\text{m}$  o  $<20$   $\mu\text{m}$ ) (Förstner et al. 1980; Aston et al, 1985).

I sedimenti relitti della piattaforma dell'Adriatico settentrionale e delle porzioni più esterne della piattaforma continentale pugliese sono depositi a grana grossa simili che giacciono in aree attualmente caratterizzate da idrodinamica a bassa energia e che sono correlate ad antichi processi di deposito. Al contrario, i depositi presenti e recenti (olocene) nelle aree più profonde del bacino adriatico e in diverse aree sono costituiti da peliti rielaborate e depositate dalle correnti attuali (Savelli et al. 1990; Colantoni et al. 1990; Coccioni et al. 1992).

Pertanto, elevate concentrazioni di mercurio sono state rilevate nella fascia fangosa dell'Olocene a grana fine al largo delle Marche meridionali e nella zona interna della piattaforma del settore pugliese più meridionale. Le alte concentrazioni misurate nei campioni delle Marche e del nord del Promontorio del Gargano sono dovute a input provenienti dal nord poiché i sedimenti fini del Po e dell'Appennino vengono trasportati a sud dall'attuale sistema che scorre al largo della costa italiana.

L'alto contenuto di mercurio è probabilmente correlato a fattori antropici, anche considerando il forte sviluppo industriale che ha coinvolto la Pianura Padana negli ultimi decenni. Nel ripiano interno del sud, la Puglia, che non è influenzata dalla circolazione generale dell'Adriatico settentrionale, i valori di mercurio più elevati sono dovuti a fattori locali, incluso anche un contributo da fonti antropogeniche.

Questi valori sono molto più bassi di quelli misurati in aree fortemente colpite come il Golfo di Trieste e la Laguna di Marano (Covelli et al., 2001; Piani et al., 2005).

Le concentrazioni di mercurio sono più alte nei pressi di porti affollati e aree altamente industrializzate, che sono fortemente colpite dal traffico marittimo e da altre attività umane, e talvolta superano anche i limiti regolatori (0,3 mg/Kg, Directive 60/2000).

Secondo Dolenec et al. (1998), la maggior parte del mercurio nell'Adriatico centrale proviene dall'area dell'Adriatico settentrionale, con un'influenza minore dal lato est.

In tabella 3 sono indicati i riferimenti bibliografici per quanto concerne le concentrazioni dei metalli dei sedimenti delle acque del Mar Adriatico.

Tabella 3 - Confronto dei valori di concentrazione di Mercurio nei sedimenti del Mar Adriatico riportati in letteratura

<b>Area di campionamento</b>	<b>Hg mg/kg Min – max</b>	<b>Riferimenti</b>
Nord Adriatico	0.09 – 1.2	Dolenec et al. 1998
Adriatico centrale	0.02 – 0.25	Dolenec et al. 1998
Sud Adriatico	0.07 – 0.42	Dolenec et al. 1998
Golfo di Trieste	0.10 – 23.30	Covelli,S et al., 2001
Laguna di Marano (nord Adriatico)	0.13 – 6.58	Piani R, Covelli S, Biester H., 2005
Fiume Po	0.07 – 0.23	Fabbri et al., 2001
Adriatico Centrale	0.01 – 0.12	Droghini et al., 2019
Sud Adriatico	0.01 – 0.12	Droghini et al., 2019
Nord Adriatico	0.05 – 8.63	Ferrara et al., 1992
Adriatico centrale	0.02 – 0.13	Ferrara et al., 1992
Sud Adriatico	0.03 – 0.07	Ferrara et al., 1992

#### ***1.4.4- Tossicità del mercurio***

La tossicità del mercurio è nota sin dai tempi degli antichi Romani e si ritiene che diversi uomini di potere, durante il corso della storia, siano morti per avvelenamento da mercurio (Napoleone, Ivan il Terribile e Carlo II d’Inghilterra ne sono un esempio).

Nell’Inghilterra dell’Ottocento, inoltre, si scoprì che i disordini mentali diffusi tra i produttori di cappelli erano dovuti alla grande quantità di Mercurio che essi maneggiavano per produrre il feltro dei cappelli stessi (Battigelli, 1960).

Tuttavia, solo dal Novecento si iniziarono a condurre studi mirati sulla tossicità del mercurio: un caso di studio eclatante fu il disastro ambientale della baia di Minamata, in Giappone, dove l'azienda Chisso utilizzava celle a mercurio per catalizzare il processo di produzione dell'acetaldeide. Le acque di scarico contaminate venivano riversate direttamente in mare e la popolazione locale, la cui sussistenza era basata principalmente sui prodotti della pesca, iniziò a manifestare una serie di sintomi, tra i quali cute arrossata e pruriginosa, desquamazione della cute, difficoltà motorie e della vista, fotosensibilità, tachicardia, teratogenesi, ritardo mentale e nello sviluppo dei neonati (Mariuz, 2011).

Nel 1956, la sua causa era ritenuta sconosciuta, e si chiamava "strana malattia". Solo tre anni dopo, nell'ottobre del 1959, la causa fu verificata da un team dell'Università di Kumamoto (gruppo di studio di Minamata Malattia, 1968). Più tardi, nel 1965, si verificò il secondo focolaio della malattia di Minamata nella prefettura di Niigata, in Giappone (Tsubaki, 1968). Secondo un rapporto dell'Università di Kumamoto Study Group (Kumamoto University Study Group 1968), il livello di mercurio nei pesci nella baia di Minamata era di oltre 10 µg/g nel 1961, sebbene i livelli siano scesi a una media di 0,5 µg/g dopo il 1969.

La malattia di Minamata è un'incurabile malattia artificiale. Si tratta di avvelenamento da mercurio organico, ma non vi è alcuna garanzia che un simile incidente non possa essere indotto da altre sostanze chimiche.



La principale fonte di esposizione umana al monometilmercurio è costituita dal consumo dei pesci, frutti di mare e mammiferi marini (Kjellstrom 1986; Davidson 1995; Soresen & Murata 1999; Bellanger 2000; Sanzo 2001; Hightwer 2003; Mahaffey et al., 2004). Essendo un composto lipofilo, il mercurio viene facilmente trattenuto nella sostanza grassa e tende a bioaccumularsi nella catena alimentare acquatica concentrandosi nei tessuti degli organismi posti al vertice della rete trofica, fino all'uomo. La combinazione della lipofilia del metilmercurio nel mezzo acquatico esterno e dell'idrofilia delle specie di mercurio intracellulari ne provoca l'intenso bioaccumulo: la prima ne consente la penetrazione, la seconda la ritenzione. Il metilmercurio ingerito è assorbito rapidamente e quasi completamente dall'apparato gastrointestinale. La maggior parte si complessa con la cisteina libera e con proteine e peptidi che contengono questo aminoacido. Il complesso metilmercurio-cisteina viene riconosciuto da proteine trasportatrici di aminoacidi come se fosse metionina, un altro aminoacido essenziale. Così mascherato il composto tossico è in grado di attraversare le barriere cellulari e di raggiungere gli organi bersaglio. Visto che si lega fortemente alle proteine, il mercurio non può essere facilmente eliminato dall'organismo (Skylberg et al., 2006).

In relazione alla tossicità acuta, i target del metilmercurio si trovano a livello del sistema nervoso. Sono state proposte teorie di apoptosi come meccanismo per la morte neuronale, in particolare delle cellule granulari nel cervelletto (Nakamura et al., 1993).

Inoltre, è stato osservato che nella morte di cellule trattate con metilmercurio sono implicate anche specie reattive dell'ossigeno (Ali et al., 1992).

Si ritiene che l'assunzione continua di piccole dosi di metilmercurio, ritenute prive di segni acuti di tossicità, possa aver causato la malattia cronica di Minamata. Inoltre, anche piccole dosi possono lasciare lievi danni al cervello, i quali possono accumularsi e provocare patologie evidenti dopo anni di esposizione (Eto, 2000).

In Europa la stima di assunzione media di metilmercurio per i consumatori europei è 0,0016 mg/kg di peso corporeo e di 0,004 mg/kg di peso corporeo per il mercurio inorganico. Il gruppo di esperti scientifici sui contaminanti nella catena alimentare (CONTAM) ha stabilito un TWI di mercurio inorganico di 0,004 mg/kg di peso corporeo, mentre per il metilmercurio 0.0013 mg/kg di peso corporeo, entrambi espressi come mercurio. L'esposizione a metilmercurio è generalmente inferiore al TWI in Europa, ma si osservano anche livelli più elevati (EFSA Journal, 2012).

Come mostrato dalla Figura 15, i limiti di legge previsti dal regolamento UE 1882/2006 con modifiche relative ad altri metalli, stabilisce come il tenore massimo tollerabile di mercurio nella triglia sia pari a 1mg/kg di peso fresco e pari a 0.5mg/kg nel nasello.

Prodotti alimentari	Tenori massimi (mg/kg di peso fresco)
<p>Prodotti della pesca e muscolo di pesce, escluse le specie elencate al punto successivo. Il tenore massimo si applica ai crostacei, escluse le carni scure del granchio e quelle della testa e del torace dell'aragosta e di grossi crostacei analoghi (<i>Nephropidae</i> e <i>Palinuridae</i>).</p>	0,50
<p>Muscolo dei seguenti pesci: rana pescatrice (<i>Lophius species</i>) pesce lupo (<i>Anarhichas lupus</i>) palamita (<i>Sarda sarda</i>) anguilla (<i>Anguilla species</i>) pesce specchio (<i>Hoplostethus species</i>) pesce topo (<i>Coryphaenoides rupestris</i>) ippoglosso (<i>Hippoglossus hippoglossus</i>) marlin (<i>Makaira species</i>) rombo del genere <i>Lepidorhombus</i> (<i>Lepidorhombus species</i>) triglia (<i>Mullus species</i>) luccio (<i>Esox lucius</i>) palamita bianca (<i>Orcynopsis unicolor</i>) cappellano (<i>Trisopterus minutus</i>) squalo portoghese (<i>Centroscymnus coelolepis</i>) razze (<i>Raja species</i>) scorfano del genere <i>Sebastes</i> (<i>Sebastes marinus</i>, <i>S. mentella</i>, <i>S. viviparus</i>) pesce vela del Pacifico (<i>Istiophorus platypterus</i>) pesce sciabola (<i>Lepidopus caudatus</i>, <i>Aphanopus carbo</i>) pagello (<i>Pagellus species</i>) squali (tutte le specie) tirsite (<i>Lepidocybium flavobrunneum</i>, <i>Ruvettus pretiosus</i>, <i>Gempylus serpens</i>) storione (<i>Acipenser species</i>) pesce spada (<i>Xiphias gladius</i>) tonno e tonnetto (<i>Thunnus species</i>, <i>Euthynnus species</i>, <i>Katsuwonus pelamis</i>)</p>	1,0

Figura 15 – limiti di legge previsti per i livelli di mercurio nei prodotti ittici

#### ***1.4.5- Mar Mediterraneo, mercurio e altri pesci***

Il mar Mediterraneo è un bacino semi-chiuso che si estende per 2.5 milioni di km<sup>2</sup> a bilancio idrico negativo, caratterizzato da una forte evaporazione che eccede di gran lunga l'apporto fluviale, con un deficit annuo di circa 2500 km<sup>3</sup> di acqua (EEA,1999).

Questa particolare condizione rende il mar Mediterraneo un “bacino di concentrazione” per tutte le sostanze disciolte in acqua, comportando anche un'elevata salinità (circa 36.2-39‰, in confronto ai 30-35 ‰ delle restanti acque oceaniche) (Argiros,2012).

Tutto ciò comporta delle risposte adattive fisiologiche per gli ecosistemi marini del mar Mediterraneo e, più o meno direttamente, anche per l'uomo, che da sempre trae nutrimento e sostegno economico dai prodotti della pesca. Infatti a differenza degli oceani si distingue per l'elevato contenuto di depositi di solfuro di mercurio, causandone un pericolo per i pesci di questo habitat.

Tra i prodotti ittici i maggiori esposti al rischio di questa contaminazione sono i grandi predatori pelagici tra cui il tonno rosso (*T. thynnus*) e il pesce spada (*X. Gladius*). Come mostrato dalla tabella 4, si evidenzia una concentrazione più alta nei tonni provenienti dall'area Mediterranea rispetto a quelli provenienti da altre aree geografiche. Anche rispetto alle altre specie analizzate (*T. albacares*, *T. alalunga* e *T. obesus*) il tonno rosso (*T. thynnus*) mostra una concentrazione di Hg maggiore: le altre specie vivono soprattutto nelle acque tropicali e sub-tropicali degli oceani Atlantico, Pacifico e

Indiano e non entrano frequentemente nel Mediterraneo, il quale risulta più contaminato da mercurio rispetto agli altri mari e oceani (Ferrara et al., 1986).

Tabella 4 – confronto tra concentrazione di mercurio nel tonno proveniente da zone diverse

Specie, area dicampionamento	Lunghezza (cm) o peso (Kg)	Hg tot. (mg/Kg ww) M±DS (min-max)	Riferimenti
<b><i>T. thynnus:</i></b>			
Ionio ( <i>farmed</i> )	8-540 (P)	(0.28-1.28)	Milatou et al. 2015
Australia	16.2-41.6 (P)	0.32±0.03	Balshaw et al. 2008
Mediterraneo ( <i>farmed</i> )	-	0.54-0.67	Kawakami et al. 2010
Giappone	-	0.33-0.61	
Stretto di Messina	50-190 (P)	(2.45-4.21)	Licata et al. 2005
Ionio	2.85-4.36 (P)	(0.13-0.35)	Storelli et al. 2005
Castellon (ES)	0.7-1.085 (P)	(0.081-0.306)	Hernandez-Hernandez et al. 1990
Adriatico ( <i>farmed</i> )	100-300 (P)	(0.490-1.809)	Srebocan et al. 2007
Canarie (ES)	-	(0.298-0.779)	Olmedo et al. 2013
New Jersey (USA)	-	0.52±0.034	Burger e Gochfeld. 2012
Mediterraneo Tirreno	130-290 (P) 0.33-158 (P)	(0.246-0.714) (0.07-4.26)	Di Bella et al. 2015 Storelli e Marcotrigiano. 2001
market Mediterraneo	>50 (P) 5.3-83 (P)	(0.24-0.90) (0.16-2.59)	Ugarte et al. 2012 Storelli et al. 2002
<b><i>T. alalunga:</i></b>			
market	-	(0.118-0.564)	Besada et al. 2006
Oceano Indiano	5.3-83 (P)	0.478±0.14	Bodin et al. 2017
Pacifico centrale	22.6±3.8 (L)	0.50±0.24	Kaneko e Ralston. 2007; Ralston et al. 2016
Mediterraneo	4.0-8.7 (P)	1.17±0.23	Storelli et al. 2002
<b><i>T. albacares:</i></b>			
Sud Africa (Atlantico)	29-50.8 (P)	0.80±0.25	Bosch et al. 2016
market	-	(0.166-0.531)	Besada et al. 2006
New Jersey (USA)	-	0.20±0.025	Burger e Gochfeld. 2012
New Jersey (USA)	-	0.43±0.05	Burger e Gochfeld. 2013
Oceano Indiano	113±13 (L)	0.38±0.17	Bodin et al. 2017
Pacifico centrale	41.1±16.7 (L)	0.30±0.18	Kaneko e Ralston. 2007; Ralston et al. 2016
Oceano Atlantico	-	(0.22-1.3)	Ugarte et al. 2012
<b><i>T. obesus:</i></b>			
market	-	(0.344-1.29)	Besada et al. 2006
Oceano Indiano	87±46 (L)	0.339±0.29	Bodin et al. 2017
Pacifico centrale	41.2±20.4 (L)	0.60±0.25	Kaneko e Ralston. 2007; Ralston et al. 2016
<b><i>Thunnus spp.:</i></b>			
market	-	0.31±0.01	Cabanero et al. 2005
market	-	0.37±0.02	Cabanero et al. 2007

Situazione analoga si riscontra per il pesce spada: dalla tabella 5 si vede come gli esemplari catturi nell'Oceano Pacifico e Indiano, pur essendo di taglia più grande presentano concentrazioni minori di Hg rispetto agli esemplari del Mediterraneo. Questo risultato conferma l'elevato impatto ambientale da Hg del Mar Mediterraneo.

Tabella 5 – confronto tra concentrazione di mercurio nel pesce spada tra mari diversi

Specie, area di campionamento	Lunghezza (cm) o peso (Kg)	Hg tot. (mg/Kg ww) M±DS (min-max)	Riferimenti
<b><i>X. gladius:</i></b>			
Ionio	1.37-3.68 (P)	(0.02-0.15)	Storelli et al. 2005
Galizia (ES)	-	(0.177-1.227)	Olmedo et al. 2013
market	-	(0.18-2.58)	Jinadasa et al. 2013
market	-	0.47 ± 0.02	Cabanero et al. 2005
market	-	0.45 ± 0.02	Cabanero et al. 2007
Oceano Indiano	150 ± 5 (L)	0.987 ± 0.45	Bodin et al. 2017
Pacifico centrale	78.4 ± 55.9 (L)	1.07 ± 0.60	Kaneko e Ralston. 2007; Ralston et al. 2016
Tirreno	6-125 (P)	(0.15-1.05)	Storelli e Marcotrigiano. 2001

## 2. SCOPO DELLA TESI

Il seguente studio di tesi si pone l'obiettivo di determinare la concentrazione di mercurio totale nel filetto edibile di triglia (*Mullus barbatus*) e di merluzzo (*Merluccius merluccius*) provenienti dal Mar Adriatico al fine di valutarne la sicurezza alimentare.

Il mercurio è, infatti, un metallo pesante conosciuto per la sua elevata tossicità per gli organismi biologici, che esprime in particolar modo nella sua forma metilata (metilmercurio,  $(\text{CH}_3\text{Hg}^+)$ , e che è in grado di biomagnificare lungo la catena trofica.

Di conseguenza gli organismi acquatici (in particolare i pesci di grossa taglia) costituiscono la fonte di esposizione principale per gli esseri umani.

Il metilmercurio inoltre, presentando un'elevata solubilità nei confronti dei lipidi (lipofilia), mostra la tendenza ad accumularsi preferibilmente in questo comparto. Si è valutata pertanto una possibile correlazione tra quantità di lipidi presenti e concentrazione totale di mercurio nel filetto edibile.

I risultati sono infine stati confrontati con la letteratura scientifica e con le concentrazioni limite sancite in riferimento alla quantità di mercurio totale ammissibile per le specie ittiche trattate in questo studio (Regolamento (CE) n. 1881/2006 e successive modifiche).

### **3. MATERIALI E METODI**

#### ***3.1- Area di studio e campionamento***

Il mare Adriatico settentrionale è un bacino poco profondo (circa 100 m di profondità massima), situato nella parte settentrionale del Mar Mediterraneo, ed è l'habitat marino da cui derivano i campioni di questo lavoro di tesi. È caratterizzato da forti input dai fiumi italiani che scorrono attraverso aree densamente popolate e intensamente coltivate (Sagratini et al., 2008). Il fiume Po è il fiume più grande che sfocia nel mare Adriatico, caratterizzato da un tasso medio di scarico annuale di 1500-1700 m<sup>3</sup>/s, che rappresentano circa un terzo del totale di acqua dolce fluita nel Mare Adriatico (Marini et al., 2008; Campanelli et al., 2011).

I campioni di nasello e triglia sono stati pescati tramite peschereccio nella regione centrale del Mar Adriatico, in particolare nell'area GS17 (area adriatica delimitata dal Gargano e da Budua, Montenegro), tra l'Italia e la Croazia e all'altezza di Rimini ed Ancona (Fig. 15). Il campionamento è stato effettuato durante le stagioni dell'anno 2018-2019.



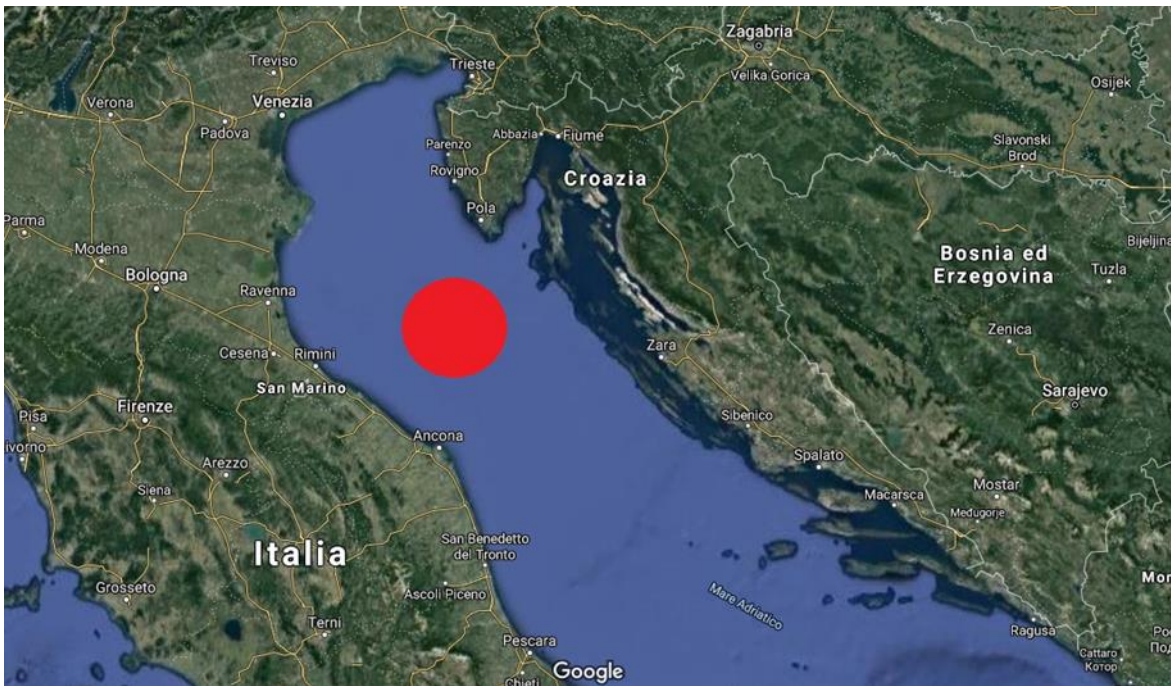


Figura 15 - Cartina area GS17, in rosso l'area di pesca dei campioni.

### 3.2 – Campionamento

#### Campionamento *Merluccius merluccius*.

Per questo lavoro di tesi sono stati presi in esame 74 campioni di nasello (*Merluccius merluccius*) campionati nelle diverse stagioni. La maturità sessuale dei pesci è stata determinata tramite uno studio sulle gonadi. La revisione delle caratteristiche riproduttive si basa sulla stima accurata dello sviluppo gonadale e sulla determinazione delle fasi di maturità nei singoli campioni. La determinazione si basa su un esame macroscopico (visivo) delle dimensioni delle ghiandole o su un'analisi istologica più accurata della gonade (Kokokiris et al., 2013).

La tabella 6 riporta i campioni di nasello divisi per sesso, periodo di campionamento e maturità sessuale.

Tabella 6 Campioni di nasello analizzati, divisi per sesso, periodo di campionamento e maturità sessuale (M= maturi, NM= non maturi).

Stagione	Maschi	Femmine
Inverno	4 M	13 NM
	5 NM	
Primavera	10 M	5 NM
Estate	7 M	3 NM
Autunno	4 M	1 M
	6 NM	9 NM

Di questi campioni sono stati determinati peso (g) e lunghezza (cm).

#### Campionamento *Mullus barbatus*.

Per questo lavoro di tesi sono stati presi in esame 16 pool di triglia (*Mullus barbatus*), ottenuti suddividendo gli esemplari in base a sesso, stadio vitale (giovanile, adulto, spawning e post-spawning) e sito di campionamento (costa o largo).

In base alla struttura e alla grandezza delle gonadi è possibile stabilire le fasi sessuali e classificarle in:

- Fase 1 e 2a, fasi caratterizzanti l'età giovanile in cui vi è lo sviluppo delle gonadi fino al raggiungimento sessuale.

- Fase 2b (pre-spawning), in cui le gonadi di soggetti adulti hanno raggiunto la maturità sessuale e inizia la produzione di gameti.
- Fase 2c (spawning), in cui avviene l'emissione di gameti.
- Fase 4a (post-spawning), fase in cui è terminata l'emissione di gameti.
- Fase 4b, fase di riposo.

Per chiarezza, viene riportato in tabella 7 lo schema dei 16 pool analizzati.

Tabella 7 numero di esemplari di triglia utilizzati per formare i pool, divisi per sesso, sito di campionamento e stadio vitale.

Sesso		Giovanile (J)	Adulto (A)	Spawning (S)	Post-spawning (PS)
Maschio	Costa	10	7	8	20
	Largo	4	30	26	58
Femmina	Costa	9	44	31	80
	Largo	6	19	24	31

Di questi campioni sono stati determinati peso (g) e lunghezza (cm).

### 3.3 – Laboratorio

La decontaminazione dei vari materiali e la preparazione dei campioni da analizzare sono state effettuate in *clean room*, ISO 14644-1 Classe 6, con aree ISO Classe 5 sotto flusso laminare (Tabella 8). La temperatura del laboratorio è impostata a  $20 \pm 1$  °C durante l'inverno e a  $23 \pm 1$  °C durante l'estate.

All'ingresso sono stati indossati camici, calzari e guanti da clean room seguendo tutte le procedure previste per questo tipo di laboratorio durante tutte le fasi più critiche del trattamento e della preparazione dei campioni.

Tab. 8 – *Classi ISO relative alla clean room*

<b>Classe Area</b>	<b>0.1µm</b>	<b>0.2 µm</b>	<b>0.3 µm</b>	<b>0.5 µm</b>	<b>1 µm</b>	<b>5 µm</b>
5	100,000	23,700	10,200	3,520	832	29
6	1,000,000	237,000	102,000	35,200	8,320	292

Il funzionamento della clean room si basa sul principio di ricircolo forzato di aria super-filtrata in una stanza sigillata ed è costituito da grandi ventilatori operanti a bassa velocità, che immettono nella stanza, attraverso il soffitto, un flusso laminare di aria precedentemente filtrata attraverso filtri ad alta efficienza (HEPA), posizionati all'esterno della stessa, ed aspirata attraverso griglie poste sul pavimento.

L'analisi analitica dei campioni è stata fatta in un laboratorio attiguo alla clean room, dove si trova lo strumento utilizzato per la rilevazione del mercurio: il Direct Mercury Analyzer (DMA).

### ***3.4 - Reagenti e soluzioni standard***

L'acqua che viene utilizzata per la preparazione di soluzioni standard, per il lavaggio dei materiali e per gli usi generali del laboratorio, viene prodotta attraverso un sistema

Millipore Midi (Fig. 16) con trattamento a due stadi, che produce rispettivamente acqua deionizzata nel primo stadio (sistema Elix) e acqua elettrodeionizzata Milli-Q nel secondo stadio (sistema Milli-Q).



*Figura 16 – Sistema Milli -Q e sistema Elix*

Per il trattamento dei campioni, per la pulizia dei contenitori e per tutte le altre procedure analitiche sono stati utilizzati reagenti di grado superpuro o ultrapuro, con un contenuto di metalli pesanti molto basso, al fine di evitare la contaminazione dei campioni stessi. In particolare, sono stati utilizzati etere di petrolio 35 - 60 °C per l'analisi dei pesticidi (Carlo Erba, Arese (MI), Italia, cod.447862); acetone per l'analisi di pesticidi (Carlo Erba, Arese (MI), Italia, cod.SO01500500 HCl ultrapuro (34.5%, UpA), HCl superpuro (34-37%, SpA), HNO<sub>3</sub> grado reagente (65%) della Carlo Erba (Milano, Italia).

Gli acidi grado reagente sono stati utilizzati solo nei primi stadi del lavaggio dei materiali, gli acidi di grado superpuro nelle fasi finali del lavaggio degli stessi, mentre

gli acidi di grado ultrapuro sono stati usati per la preparazione di soluzioni, bianchi e standard.

Le soluzioni standard di Hg, impiegate per la quantificazione, vengono rinnovate ogni mese a partire da soluzioni (SIGMA-ALDRICH 39435) di Hg con concentrazione 1 g/L, mediante diluizione con acqua Milli-Q acidificata 2:1000.

### ***3.5.- Trattamento dei campioni***

#### **3.5.1- Liofilizzazione**

Per determinare il peso secco e il contenuto di lipidi nei campioni, è stata effettuata una liofilizzazione. Il processo di liofilizzazione è stato effettuato sul campione omogenizzato e che abbia riposato almeno un'ora a  $-80^{\circ}\text{C}$ . Questo processo di liofilizzazione permette la disidratazione del campione in particolari condizioni di temperatura (tra  $-20$  e  $-30^{\circ}\text{C}$ ) e in condizioni di vuoto (0 atm), in circa 12 ore (liofilizzatore Edwards EF40 modulyo, Crawley Sussex, England), e ci permette di ottenere un campione disidratato e a peso costante ( $\pm 0.2$  mg), conservabile a lungo termine, poiché le trasformazioni chimiche ed enzimatiche sono inibite. Tale processo è fondamentale inoltre per l'estrazione lipidica perché la presenza di acqua potrebbe interferire

Il campione (circa 1-2g) viene posto in provette di vetro precedentemente portate a peso costante. Le provette contenente il campione sono state pesate per ottenere il peso del campione umido tramite bilancia analitica (AT261 DeltaRange, Mettler Toledo,

MPIM & Co.) (Figura 17) e sigillate con del parafilm su cui è stato effettuato un piccolo foro mediante l'ago di una siringa.



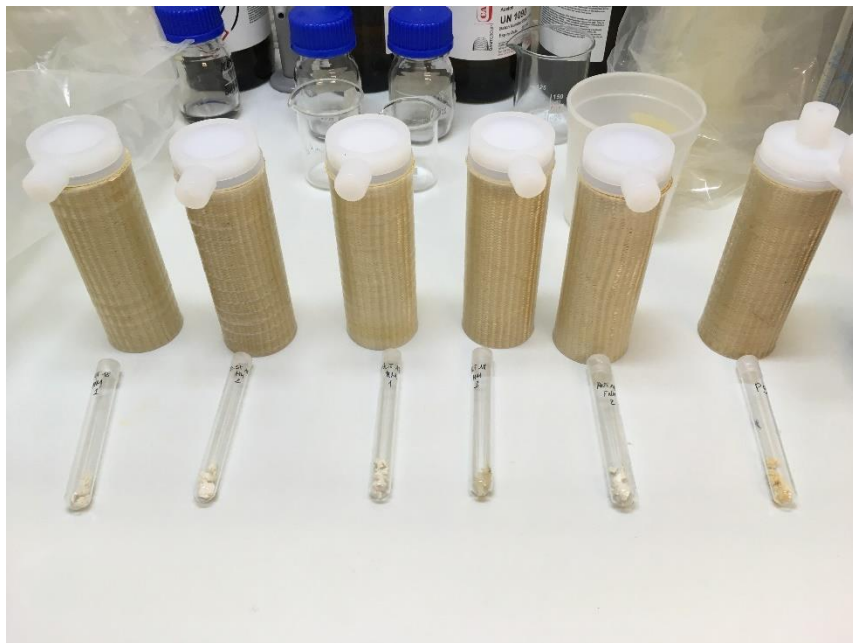
*Figura 17 – Bilancia analitica AT261*

Il processo di liofilizzazione dura circa 12 ore. Il peso secco (dry weight) è stato determinato per differenza ed è stata calcolata la percentuale d'acqua contenuta. A fine processo, i campioni non immediatamente analizzati sono stati riposti a  $-80^{\circ}\text{C}$ .

### **3.5.2 – Estrazione dei lipidi**

I campioni liofilizzati sono stati inseriti in contenitori in teflon con relative camicie (Figura 18) per la successiva estrazione dei lipidi al microonde. Al campione disidratato (peso circa 1 grammo) vengono aggiunti 10 ml di etere di petrolio e 5 ml di acetone e circa  $\frac{1}{4}$  di cucchiaino di  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro in modo tale da trattenere l'eventuale

acqua che il campione liofilizzato può inglobare durante la conservazione e/o il trattamento (agente anidrificante).



*Figura 18 – provette in vetro contenenti i campioni e relativi contenitori in teflon con camicia*

La strumentazione utilizzata per la digestione dei campioni è il Microonde MARS 5 (CEM Corporation, North Carolina, USA) con una frequenza standard di 2450MHz (Figura 19).



*Figura 19 – Microonde MARS 5*



Il principio su cui si basa è l'utilizzo dell'energia delle microonde, prodotte da un apposito generatore al fine di accelerare il processo di digestione del campione. Le microonde infatti sono radiazioni non ionizzanti che accentuano il movimento delle molecole senza portare a cambiamenti nella struttura molecolare, attivando le transizioni rotazionali dei legami molecolari polarizzabili, la migrazione degli ioni e il moto degli elettroni in materiali metallici. Così le molecole d'acqua e le specie ioniche del solvente, energizzate, collidono con le altre molecole trasferendo energia alla matrice.

Il sistema a microonde utilizzato è dotato di un carrello all'interno del quale è possibile inserire fino a 14 contenitori (vessel) in teflon PFA, trasparenti alle microonde di cui uno è il contenitore pilota (control vessel), al cui interno viene inserita la stessa quantità di materia organica presente negli altri contenitori e sul quale vengono monitorati i parametri di pressione e temperatura durante l'intero processo mediante un'apposita sonda in fibra ottica.

Per ciascuna operazione di digestione, una volta che i contenitori sono stati inseriti sul carrello e questo inserito nell'apposito alloggiamento all'interno del microonde, è necessario impostare un programma di lavoro nel quale vengono definiti i seguenti parametri:

- Potenza in Watt e percentuale di utilizzo
- Pressione

- Temperatura
- Rampa di raggiungimento di pressione e temperatura impostati
- Tempo di mantenimento dei parametri impostati (hold-time)
- Tempo di raffreddamento.

Per l'estrazione lipidica è previsto il riscaldamento fino a 90 °C in 10 minuti, tempo di attesa (hold) di 20 minuti a 90 °C e raffreddamento in 10 minuti.

Dopo il processo di estrazione, i campioni digeriti sono stati filtrati con filtri WHATMAN (GF/C diametro 90mm) sui quali viene aggiunto  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . È stato eseguito un lavaggio del filtro con un mix di etere etilico e acetone in rapporto 2:1.

Il filtrato viene portato in pesafiltri precedentemente portati a peso costante e lasciato evaporare sotto cappa su termoblocco riscaldante a 80°C (Figura 20).



*Figura 20 – thermoblock con pesafiltri posti ad evaporare*

Una volta evaporato il solvente, i contenitori vengono portati in stufa a 80°C per circa un'ora, poi fatti raffreddare in essiccatore e pesati con bilancia analitica. Il ciclo si ripete fino a raggiungimento del peso costante. Dalla pesata per differenza tra peso lordo e peso del pesafiltri si ottiene il peso dei lipidi estratti, da cui si ricava la % di lipidi presenti nel campione.

### **3.5.3 – Determinazione del Mercurio**

Il DMA 1 (Figura 21) (atomic absorption spectrophotometer, Milestone, Wesleyan University, Middletown, CT, USA) è un analizzatore diretto di mercurio, che consente di misurare il mercurio in tutti i tipi di matrice ottenendo dei risultati attendibili e convalidati in accordo alla normativa (US EPA method 7473).



*Figura 21 – DMA-1.*

Lo strumento esegue l'analisi diretta del mercurio su matrici solide, liquide e gassose senza la necessità di mineralizzare né pretrattare il campione per la riduzione a mercurio metallico. Il campione, inserito direttamente nelle navette in dotazione allo strumento, viene pesato con una bilancia analitica a quattro cifre decimali ed introdotto nella fornace del DMA-1 dove viene asciugato (250 °C per 60 s) e poi decomposto termicamente in corrente d'ossigeno (750 °C per 150 s) (Carbonell et al., 2009).

I prodotti di combustione vengono evacuati ed i vapori di mercurio intrappolati dall'amalgamatore in oro e successivamente rilasciati per la determinazione quantitativa, utilizzando la spettroscopia in assorbimento atomico a 254 nm (EPA1998). Il tempo di analisi va da 6 a 10 minuti. L'uso di questa tecnica consente di abbassare il limite di rivelabilità per il mercurio fino a 250 ng/kg (0.025ng in valore assoluto). In Figura 22 viene riportato lo schema di funzionamento dello strumento.

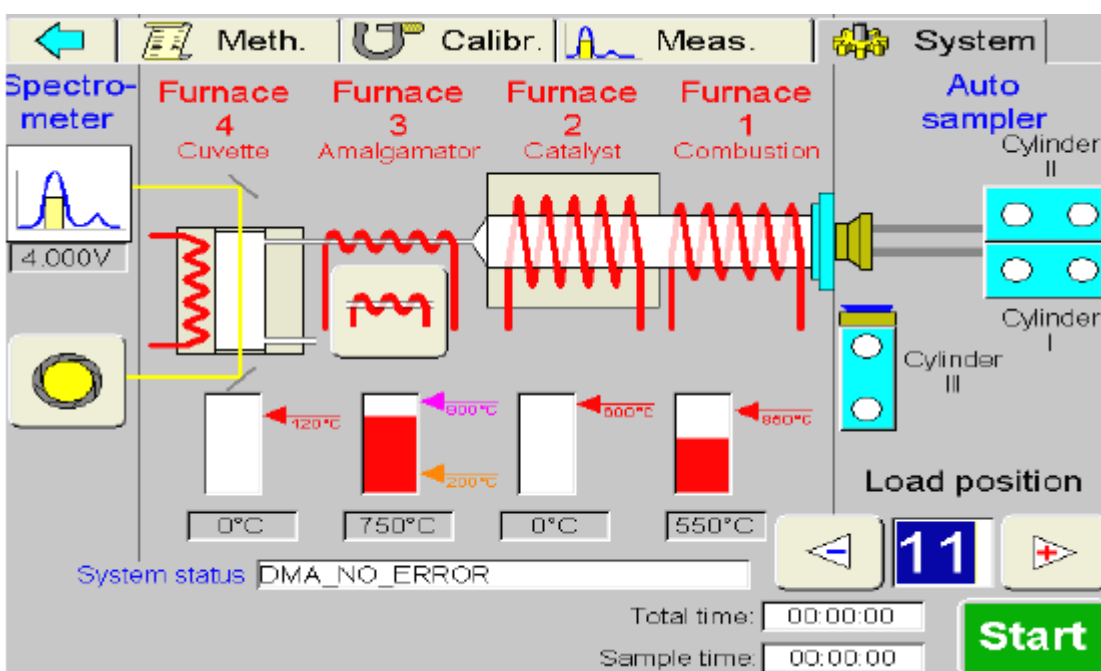


Figura 22 - schema di funzionamento del DMA-1

Il software crea un grafico dell'assorbanza in funzione del contenuto di Hg (in ng) (Figura 23) e restituisce una concentrazione in  $\mu\text{g}/\text{kg}$  o  $\text{mg}/\text{kg}$ , calcolata in base al peso del campione analizzato interpolando la retta di taratura del metodo impostato.

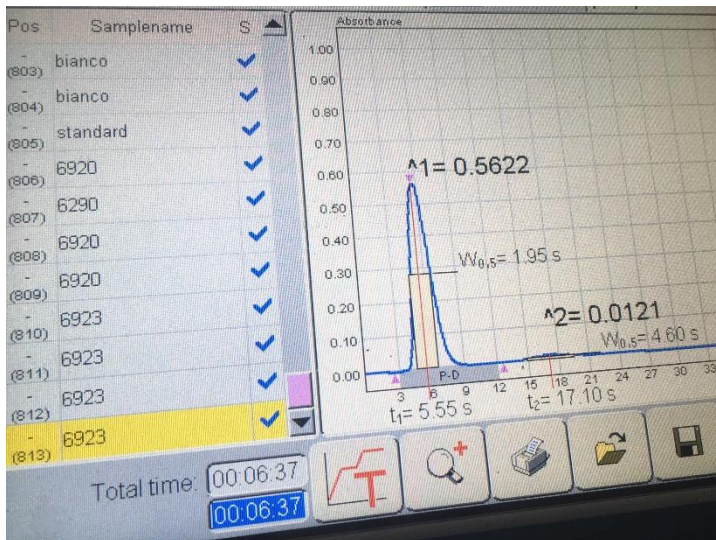


Figura 23 – Segnale ottenuto ed elaborazione del software del DMA-1

La relativa concentrazione viene calcolata seguendo la legge di Lambert-Beer. Per un generico elemento eccitato da una radiazione monocromatica i cui atomi siano dispersi in fase gassosa si ha che:

$$A = x \times b \times n$$

- $A = \log \frac{I_0}{I}$  (con  $I_0$  radiazione entrante e  $I$  radiazione uscente) è l'assorbanza;
- $x$  è il coefficiente spettrale di assorbimento atomico, che caratterizza la riga di risonanza analitica\*;
- $b$  è lo spessore dello strato assorbente (ovvero il cammino ottico della radiazione);
- $n$  è il numero totale di atomi liberi, proporzionale alla concentrazione del campione.

\*Si definiscono righe di risonanza, quelle che partono da transizioni dal livello fondamentale. Il coefficiente spettrale di assorbimento atomico è il corrispettivo dell'assorbanza molecolare ( $\epsilon$ ) della legge di Lambert-Beer.

Il DMA-1 può essere azionato tramite un apposito terminale touch screen il cui software operativo Easy Control controlla tutte le funzioni del sistema, e fornisce un prezioso feedback alle prestazioni strumentali.

Lo strumento inoltre è dotato di un solo accessorio (trappola di mercurio) consistente in tubo di vetro pieno di carbone attivo, che, grazie alla sua porosità, assorbe le sostanze inquinanti presenti nei fumi di combustione: mercurio, cloro e qualsiasi gas nocivo emesso dal campione durante la decomposizione. Lo strumento è dotato di un sistema di diagnostica che consente di controllare in qualsiasi momento le temperature delle quattro fornaci.

Un'aliquota fresca di campione (circa 0.05 g pesati in bilancia analitica) viene inserita nella cuvetta di quarzo-ceramica contenente un filtro di dischi in fibra micro-ceramica. Per ogni campione inserito all'interno della navicella del DMA, sono state eseguite quattro repliche.

Per ogni ciclo di analisi è stato aggiunto un campione di una soluzione standard (Hg 100 $\mu$ g/l, in HCl superpuro al 2.5%) per verificare l'accuratezza e l'attendibilità del dato ottenuto.

La curva di calibrazione (Figura 24) dello strumento viene costruita a partire da soluzioni standard a concentrazioni note di mercurio, che vengono preparate in matracci di vetro precedentemente lavati con una soluzione di acqua MilliQ acidificata con HCl (10%), e poi sciacquati tre volte con acqua MilliQ, a partire dallo standard certificato 1000 mg/L (Carlo Erba Reagents S.A.S, 2% HNO<sub>3</sub>)

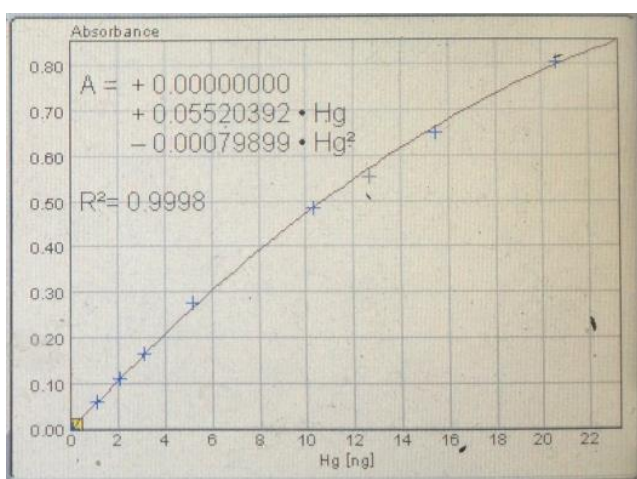


Figura 24 – curva di calibrazione del DMA-1

Prima di effettuare l'analisi dei campioni è necessario analizzare il “bianco strumentale”, che si limita a verificare la pulizia dello strumento, eseguendo un'analisi con cuvetta vuota in cui viene poi inserito il campione. Se il valore di assorbanza del bianco è  $< 0.0030$  si può analizzare il bianco successivo altrimenti si ripete l'operazione.



### ***3.6- Analisi statistica***

Al fine di comparare i risultati ottenuti tra i diversi campioni è stata utilizzata l'analisi della varianza (Test di ANOVA), seguita dal Multiple Range Test, utilizzando il software STATGRAPHICS Centurion 2018, (Manugistic Inc., Rockville, Maryland, USA). Nel caso in cui i dati non presentavano una varianza omogenea (test di Levene), si applicava il test non parametrico di Kolmogorov-Smirnov (per il confronto fra due gruppi) o il test di Kruskal-Wallis (per il confronto fra tre o più gruppi).

## 4 - RISULTATI

### 4.1 – *Merluccius merluccius*

#### 4.1.1- Parametri biometrici e tenore in peso secco e lipidi di *Merluccius merluccius*

Sono stati analizzati 74 campioni di nasello di cui 36 maschi e 38 femmine, suddivisi per stagioni. Di questi, sono stati misurati i parametri biometrici, quali lunghezza e peso (Tabelle 9 e 10 per i maschi e le femmine, rispettivamente). Per i maschi, il peso e la lunghezza medi risultavano  $77\pm 36$  g (min-max, 20.3-162.1 g) e  $21\pm 4$  cm rispettivamente. Per le femmine, si è misurato un peso medio significativamente più elevato rispetto a quello dei maschi, pari a  $136\pm 79$  g (min-max, 30.3-311.3 g) ( $P=0.0002$ , ANOVA test), e una lunghezza media pari a  $25\pm 5$  cm, significativamente maggiore rispetto ai maschi ( $P=0.0006$ , ANOVA test). Si è registrato un peso medio totale di  $108\pm 70$  g e una lunghezza media di  $23\pm 5$  cm. Considerando il periodo di campionamento, si evincono differenze statisticamente significative del peso in base alla stagione: in inverno, i maschi presentano un peso significativamente inferiore ( $P=0.043$ , Kruskal-Wallis test),  $41\pm 9$  g, rispetto agli esemplari campionati in estate ( $113\pm 14$  g), mentre non si evidenziano differenze statisticamente significative rispetto agli esemplari primaverili ( $82\pm 40$  g) e autunnali ( $79\pm 61$  g). Le femmine invece presentano un peso significativamente maggiore ( $P=0.0048$ , ANOVA test) in estate,  $203\pm 66$ , rispetto alle altre stagioni (inverno,  $126\pm 76$  g; primavera,  $62\pm 35$  g; autunno,  $114\pm 69$  g).

Considerando la maturità sessuale, sono state evidenziate differenze statisticamente significative ( $P < 0.0001$ , Kruskal-Wallis test) tra le femmine mature (peso maggiore) e i maschi, sia maturi che non maturi, e tra le femmine non mature e i maschi non maturi (vedi Figura 25).

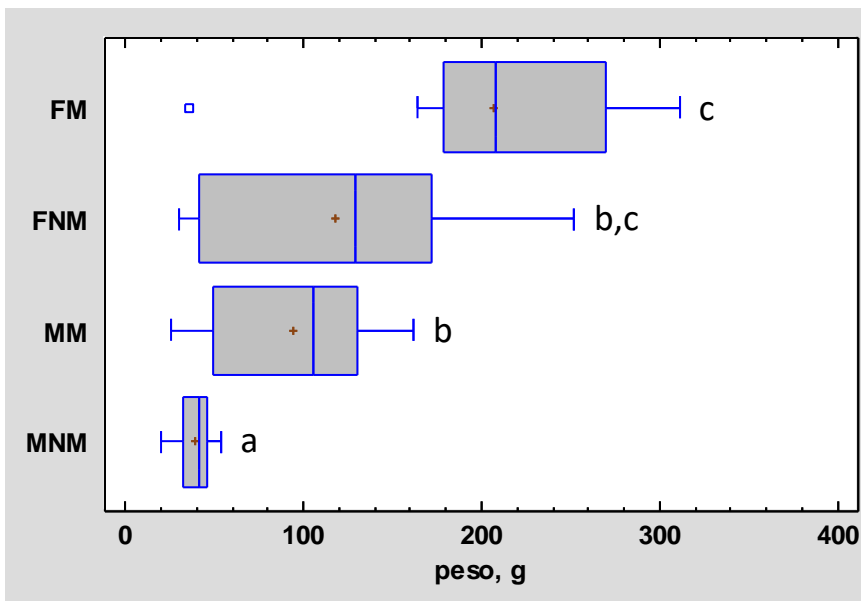


Figura 25 Box-Whisker plot relativo ai pesi degli esemplari divisi per sesso e maturità sessuale. FM, femmine mature; FNM, femmine non mature; MN; maschi maturi; MNM, maschi non maturi.

Tabella 9 Parametri biometrici, percentuale di peso secco (%dw) e di lipidi dei campioni di nasello maschili suddivisi in base alla stagione di campionamento.

Stagione	Maturazione sessuale	Campione (codice identificativo)	Peso (g)	Lunghezza (cm)	%dw	%lipidi
INVERNO	Maturi	7096	25.6	16	20.6±0.7	1.76±0.89
		7097	30.8	17		
		7102	49	17.5		
		7103	37.4	18		
	Non maturi	7108	43.3	18.5	20.4±0.6	2.22±0.89
		7109	46.4	19		
		7110	43.4	19		
		7111	54.2	19		
		7114	46.2	19.5		
PRIMAVERA	Maturi	6812	32.2	16.5	19.6±1	2.16±0.25
		6817	41.1	18.5		
		6821	46.3	19		
		6824	54.5	20		
		6827	70.4	20.5		
		6833	80.1	22.5		
		6837	119.1	24.5		
		6839	105.8	25		
		6842	129.7	26		
		6845	146.9	27		
ESTATE	Maturi	6904	106.2	23	20.9±0.2	1±0.35
		6908	99.2	24		
		6909	104.5	24		
		6910	117.3	24.5		
		6911	106.7	24.5		
		6912	118.5	25		
		6917	142	27		
AUTUNNO	Non maturi	6986	20.3	15.5	19.3±0.7	1.33±0.05
		6989	28.9	16.5		
		6991	34.1	17		
		6992	31.9	17		
		6998	37.4	18		
		6999	41.2	18.5		
	Maturi	7002	153.1	26	20.5±1.3	1.72±0.09
		7004	133.2	26.5		
		7005	148.6	27		
		7008	162.1	29		

Tabella 10 Parametri biometrici, percentuale di peso secco (%dw) e di lipidi dei campioni di nasello femminili suddivisi in base alla stagione di campionamento.

stagione	Maturazione sessuale	Campione (codice identificativo)	Peso (g)	Lunghezza (cm)	%dw	% lipidi		
INVERNO	Non maturi	7098	35.2	17	20.4±0.5	0.68±0.01		
		7101	38.4	17.5				
		7106	41.6	18.5				
		7112	47.2	19.5				
		7116	49.8	20				
		7119	124.3	25				
		7123	134.4	26.5				
		7125	149.2	26.5				
		7126	158.9	27.5				
		7129	179.4	28				
		7131	201.2	29				
		7133	220.7	30.5				
		7136	252.3	31.5				
PRIMAVERA	Non maturi	6811	30.3	16.5	20.6±2.2	1.83±0.54		
		6815	41.1	18				
		6829	64.9	21				
		6835	110.5	24				
		6846	120.1	27				
ESTATE	Non maturi	6903	92.7	22.5	22.1±1.3	1.13±0.50		
		6916	147	26.5				
		6920	172.3	27.5				
	Maturi	6918	164.1	27			21.5±0	2.21±0.41
		6923	192.3	29.5				
		6924	207.3	30				
		6925	208.7	31				
		6928	254.7	31.5				
		6930	283.9	33.5				
		6932	311.3	34.5				
AUTUNNO	Maturo	6995	36.1	17.5	21.9±0.1	1.31±0.97		
	Non maturi	6994	34.9	17.5			22.9±1.6	1.95±0.03
		6997	33.9	18				
		7000	41.3	18.5				
		7001	140.2	25.5				
		7003	136.5	26.5				
		7007	161.8	28				
		7009	180.4	29				
		7010	194.4	29.5				
		7014	185.3	31				

È stata riscontrata una correlazione lineare positiva statisticamente significativa tra la lunghezza e il peso degli esemplari ( $r=0.97685$   $P<0.0001$ ), come mostrato in Figura 26.

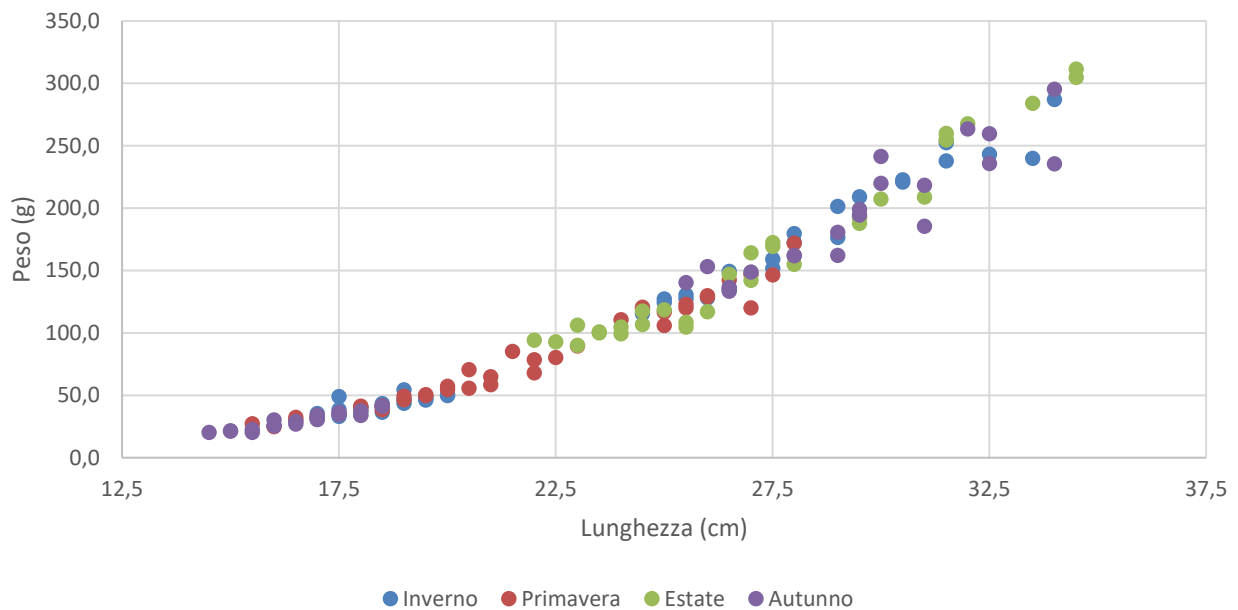


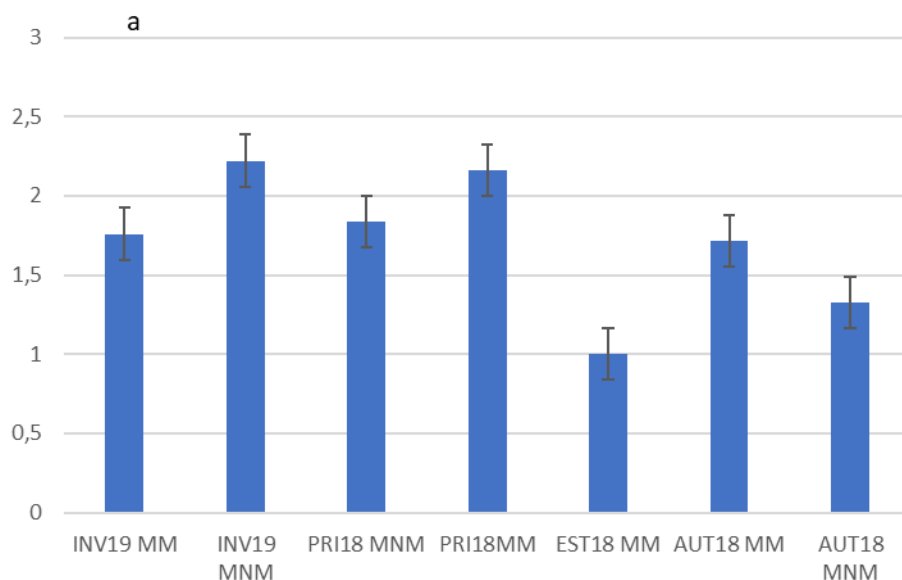
Figura 26 - Relazione tra il peso e la lunghezza in funzione delle diverse stagioni.

Le Tabella 9 e 10 riportano, oltre i parametri biometrici, anche la percentuale di peso secco (% dry weight, dw) e di lipidi degli esemplari rispettivamente di sesso maschile e di sesso femminile di nasello, divisi per stagioni. Le percentuali di peso secco (dry weight, dw) e dei lipidi sono stati ottenuti da un pool di campioni dello stesso sesso, suddivisi in maturi e non maturi, pertanto in tabella le percentuali riportate rappresentano una media dei dati ottenuti da campioni maschili e femminili divisi in maturi e non maturi.

La media della percentuale di peso secco (dry weight, dw) nei campioni totali (maschi e femmine) è pari a  $21.1 \pm 0.9\%$ . Questo valore è omogeneo per tutte le stagioni, non ci sono differenze statisticamente significative tra i vari gruppi ( $P > 0.05$ ). Il valore massimo di peso secco, pari a  $23 \pm 2\%$ , si ha nelle femmine non mature autunnali.

Il contenuto totale di lipidi oscilla da un minimo di  $0.68 \pm 0.01\%$  a un massimo di  $2.2 \pm 0.9\%$ . Gli esemplari non maturi presentano una percentuale minore di lipidi ( $1.31\%$ ) rispetto agli esemplari maturi ( $2.87\%$ ), tuttavia non si sono evidenziate differenze statisticamente significative tra i due gruppi considerati e nemmeno considerando sessi diversi e periodo di campionamento ( $P > 0.05$ , Kruskal-Wallis test).

La Figura 27 mostra il contenuto di lipidi in percentuale dei campioni di nasello divisi per sesso, femmine (a) e maschi (b), e per stagioni e maturità sessuale.



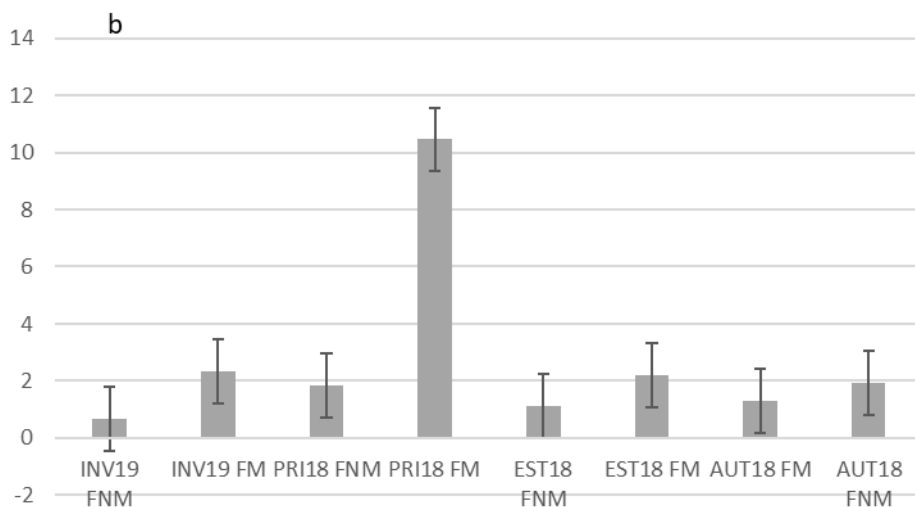


Figura 27 – Percentuale di lipidi dw nei campioni maschili (a) e femminili (b) divisi per stagioni (INV=inverno, PRI = primavera, EST = estate, AUT= autunno) e grado di maturazione (NM= non maturi, M =maturi)

#### 4.1.2 - Concentrazione di Hg in *Merluccius merluccius*

La Tabella 11 riporta la concentrazione di Hg negli organismi di *Merluccius merluccius* suddivisi per sesso, per periodo di campionamento e per maturità sessuale.



Tabella 11 Concentrazione di Hg (mg/kg, media±DS) nei filetti di *Merluccius merluccius*.

stagione	Maturità sessuale	Campioni maschi	Hg mg/kg	Maturità sessuale	Campioni femmina	mg/kg Hg + ds				
INVERNO	Maturi	7096	0.504±0.005	Maturi	7098	0.495±0.003				
		7097	0.979±0.018							
		7102	0.544±0.007							
		7103	0.658±0.006							
	Non Maturi	7108	0.422±0.005				Non Maturi	7101	0.472±0.006	
		7109	0.861±0.011							
		7110	0.414±0.004							
		7111	0.696±0.004							
		7114	0.506±0.005							
Media			0.620±0.2	Media						0.444±0.1
PRIMAVERA	Maturi	6812	0.808±0.008	Non Maturi	6811	1.393±0.015				
		6817	0.769±0.008							
		6821	0.863±0.007							
		6824	1.107±0.006							
		6827	0.602±0.004							
		6833	0.568±0.007							
		6837	0.960±0.007							
		6839	0.833±0.009							
		6842	0.732±0.006							
		6845	0.644±0.007							
Media			0.789±0.2	Media			0.609±0.2			
ESTATE	Maturi	6904	1.382±0.006	Maturi	6918	0.613±0.004				
		6908	0.611±0.006							
		6909	0.386±0.005							
		6910	0.339±0.006							
		6911	0.599±0.012							
		6912	0.651±0.007							
		6917	0.403±0.004							
Non Maturi	6923	0.892±0.015	Non Maturi	6932	0.799±0.002					
	6924	1.078±0.002								
	6925	0.734±0.003								
	6928	1.529±0.015								
	6930	1.515±0.018								
	6932	0.458±0.006								
	6903	0.892±0.006								
	6916	0.330±0.004								
6920										
Media			0.624±0.1	Media			0.444±0.1			
AUTUNNO	Maturi	7002	0.384±0.002	Maturi	6995	0.357±0.002				
		7004	0.664±0.003							
		7005	0.424±0.005							
		7008	1.386±0.010							
	Non Maturi	6986	0.628±0.006				Non Maturi	6994	0.666±0.006	
		6989	0.549±0.002							
		6991	0.352±0.002							
		6992	0.552±0.006							
		6998	0.681±0.008							
		6999	0.969±0.011							
6997	0.358±0.002									
7000	0.196±0.004									
7001	0.401±0.006									
7003	0.361±0.008									
7007	0.497±0.008									
7009	0.532±0.004									
7010	0.567±0.006									
7014	0.599±0.009									
Media			0.578±0.2	Media			0.453±0.1			

La Figura 28 mostra le concentrazioni medie di mercurio (Hg) rilevate nei campioni analizzati divisi per periodo di campionamento (stagioni) e sesso.

Il valore medio della concentrazione di mercurio nei maschi è pari  $0.6 \pm 0.2$  mg/kg dw, e nelle femmine è  $0.5 \pm 0.2$  mg/kg dw. Non si evidenziano differenze statisticamente significative tra i due gruppi ( $P=0.079$ , Kolmogorov-Smirnov Test). Per quanto riguarda gli esemplari di sesso maschile, concentrazioni di Hg significativamente più elevate ( $P=0.020$ , ANOVA test) si riscontrano negli esemplari campionati in primavera ( $0.8 \pm 0.2$  mg/kg<sup>-1</sup> dw), rispetto agli esemplari campionati nelle altre stagioni, che presentano valori simili tra loro: inverno,  $0.6 \pm 0.2$  mg/kg dw, estate,  $0.5 \pm 0.1$  mg/kg dw e autunno,  $0.6 \pm 0.2$  mg/kg dw.

Per quanto riguarda i campioni di sesso femminile, gli esemplari campionati in estate mostrano concentrazioni di Hg ( $0.7 \pm 0.2$  mg/kg dw) significativamente maggiori ( $P=0.0028$ , ANOVA test) rispetto alle concentrazioni di mercurio dei campioni autunnali e invernali (entrambi con una media pari a  $0. \pm 0.1$  mg/kg dw), mentre gli esemplari campionati in primavera ( $0.6 \pm 0.2$  mg/kg dw) non mostrano differenze statisticamente significative con gli altri gruppi.

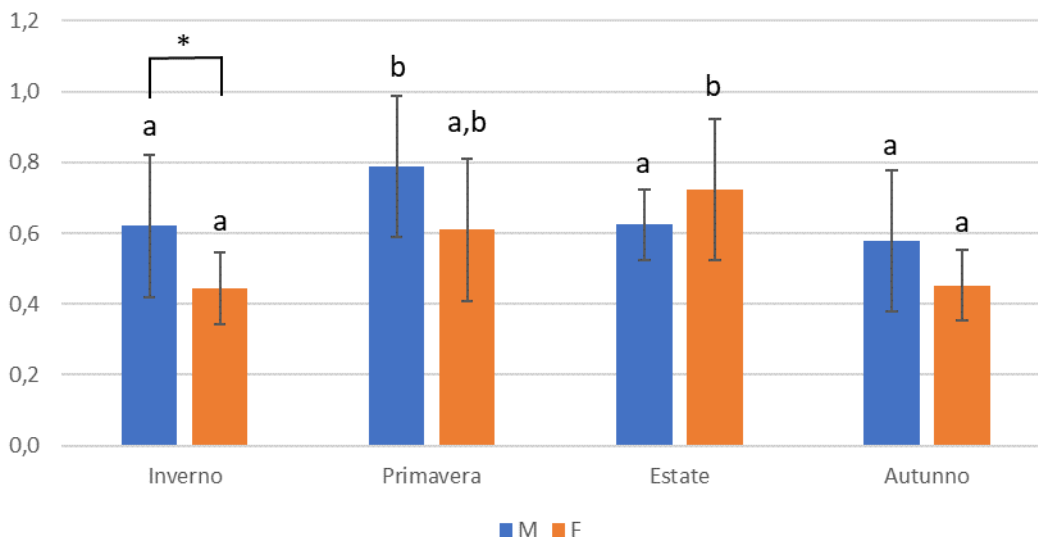


Figura 28 Concentrazione di mercurio nei campioni di nasello, divisi per stagioni e per sesso. Lettere diverse indicano differenze statisticamente significative tra gruppi dello stesso sesso ( $P > 0.05$ , ANOVA test). \*: differenza statisticamente significativa,  $P = 0.0017$ .

Nel confronto tra sesso e periodo di campionamento, si evidenziano differenze statisticamente significative tra maschi e femmine solo nei campioni invernali ( $P = 0.0017$ , ANOVA test).

Tenendo conto del sesso e della maturità sessuale, si evidenziano differenze statisticamente significative tra gruppi ( $P = 0.0010$ , ANOVA test). In particolare, gli esemplari maturi, sia maschi che femmine, presentano una concentrazione di Hg ( $0.7 \pm 0.2$  mg/kg dw e  $0.7 \pm 0.2$  mg/kg dw, rispettivamente) significativamente più alta delle femmine non mature ( $0.5 \pm 0.2$  mg/kg dw).

La Figura 29 riporta le concentrazioni di Hg per peso umido (wet weight, ww), al fine di effettuare un confronto con il limite di legge (reg. CE n.1881/2006), indicato in figura con una linea rossa.

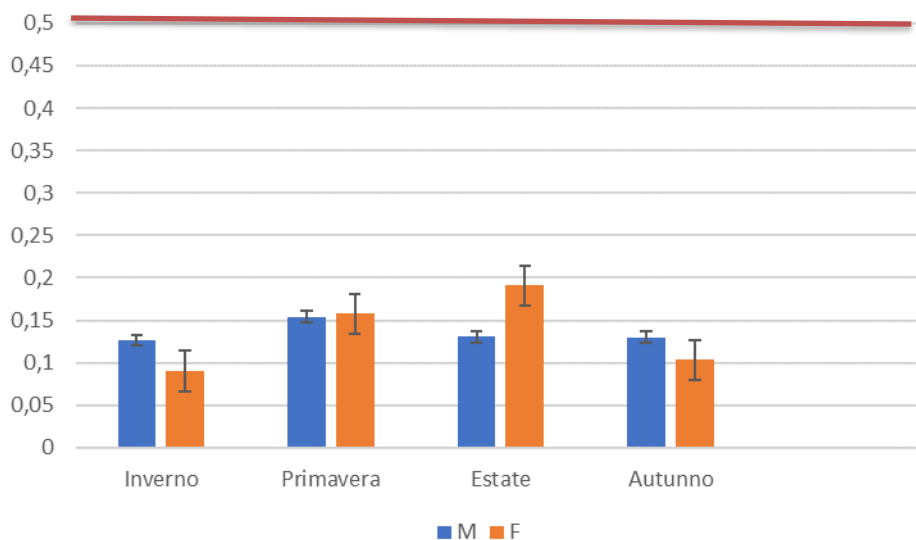


Figura 29 Concentrazioni di Hg in *M. merluccius* (mg/kg ww). Linea rossa: limite di legge (0.5 mg/kg ww, Reg. CE n. 1881/2006).

Le concentrazioni dei campioni maschili sono molto simili alle concentrazioni dei campioni femminili: rispettivamente hanno una media pari a  $0.136 \pm 0.001$  e  $0.136 \pm 0.002$  mg/kg ww. La media delle concentrazioni ww di mercurio dei campioni totali (0.13 mg/kg ww) non supera il limite di legge (paria a 0.5 mg/kg).

#### 4.1.2.1 - Correlazione tra contenuto di Hg e peso di *Merluccius merluccius*

Le relazioni fra concentrazione del metallo e parametri biometrici sono state valutate in funzione del peso degli esemplari, vista la correlazione lineare statisticamente

significativa tra peso e lunghezza ( $r = 0,9787$ ,  $P < 0.0001$ ), come mostrato in Figura 24.

Anche nella letteratura scientifica la concentrazione dei contaminanti viene generalmente correlata al peso degli organismi studiati.

La Figura 30 riporta la concentrazione di Hg ottenuta per ogni esemplare analizzato in funzione del peso. Considerando tutti gli esemplari analizzati, non c'è correlazione statisticamente significativa tra contenuto di mercurio e peso (o lunghezza) ( $r = 0.0412$ ,  $P = 0.1141$ ).

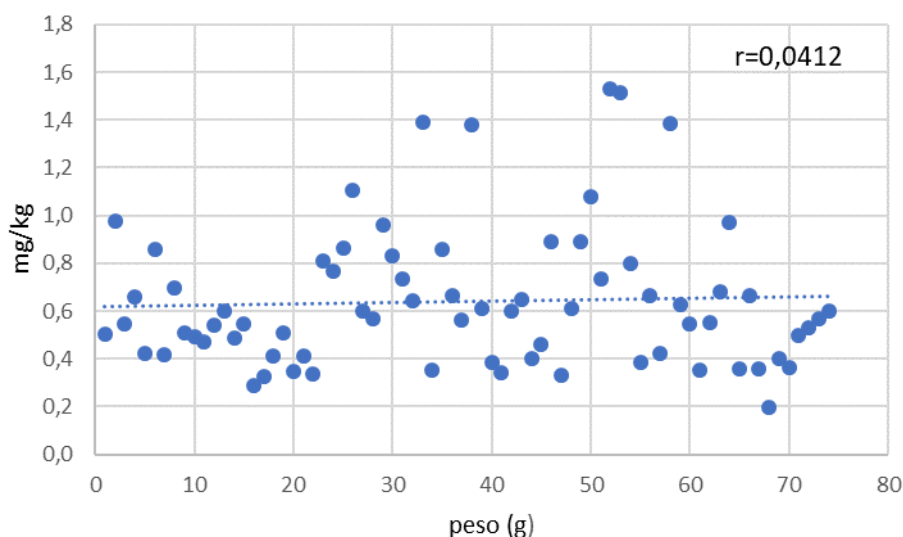


Figura 30 – Relazione tra peso e concentrazione di mercurio in tutti gli esemplari

Non si evidenziano correlazioni statisticamente significative nemmeno tra concentrazione di mercurio e peso di esemplari maschi ( $r=0.0458$   $p > 0.05$  (Figura 31), così come non risultano correlazioni statisticamente significative ( $P > 0.05$ ) tra peso e concentrazioni di mercurio nei campioni di *M. merluccius* maschili suddivisi per stagioni (Figure 32 a, b, c, d).

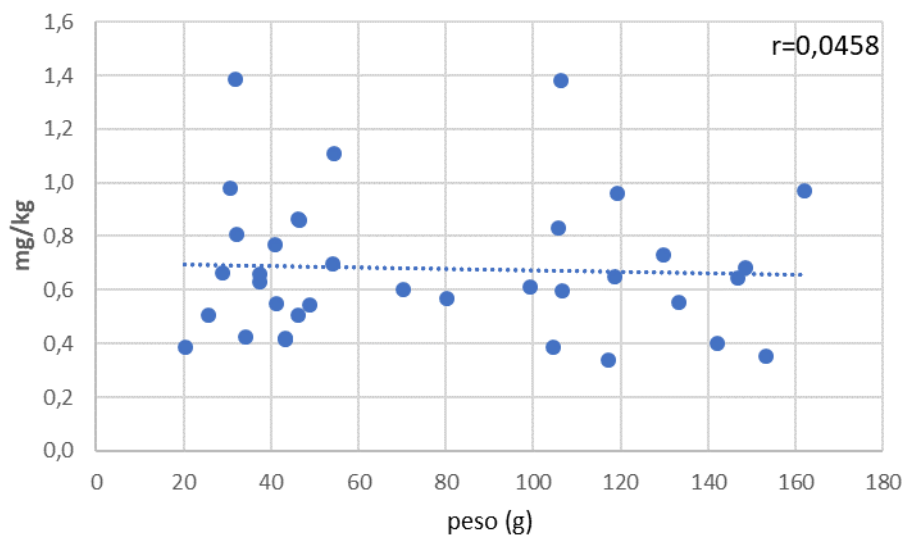


Figura 31 – Correlazione tra concentrazione di mercurio e peso degli esemplari maschili.

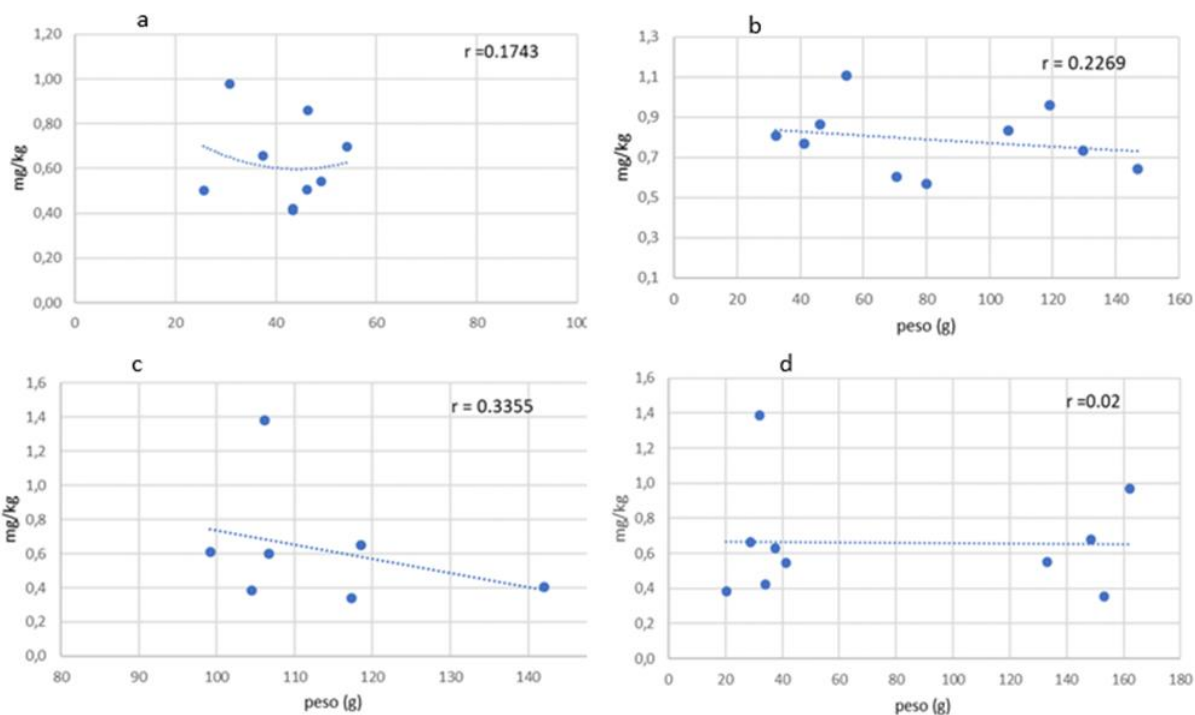


Figura 32 - Correlazione tra concentrazione di mercurio (mg/kg dw) e peso divisi per stagioni: inverno (a), primavera (b), estate (c) e autunno (d).

Per quanto riguarda gli esemplari femmina, è stata individuata una correlazione lineare positiva ( $r=0.3165$ ) non statisticamente significativa ( $P>0.05$ ) tra concentrazione di mercurio e il peso delle femmine analizzate (Figura 33).

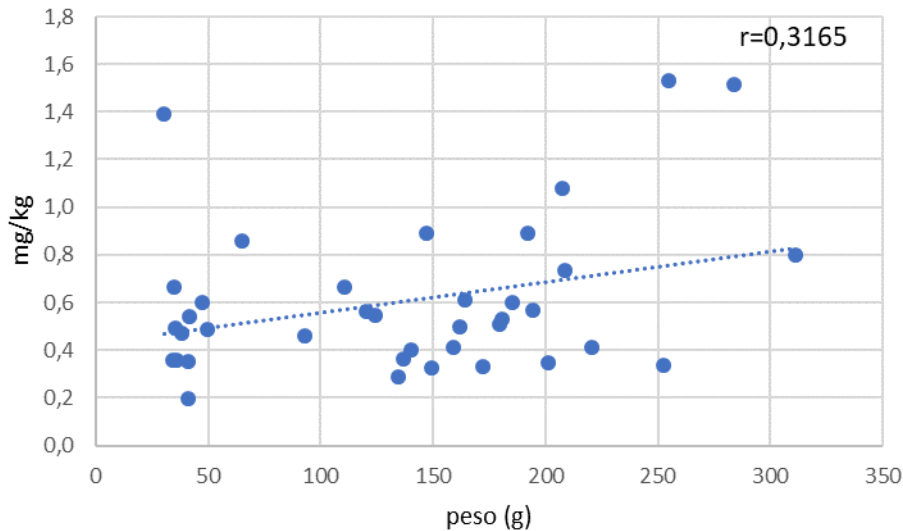


Figura 33 – Correlazione tra concentrazione di mercurio e peso degli esemplari femminili.

È stata trovata una correlazione lineare positiva statisticamente significativa tra concentrazione di mercurio e peso dei campioni di nasello femminili invernali, ( $r=0.6302$ ;  $p=0.0209$ ), e tra concentrazione di mercurio e peso dei campioni di nasello femminili estivi ( $r=0.6294$ ,  $P<0.05$ ), mentre i campioni femminili primaverili e autunnali mostrano una correlazione lineare positiva non significativa tra i parametri considerati (Figura 34 a,b,c,d).

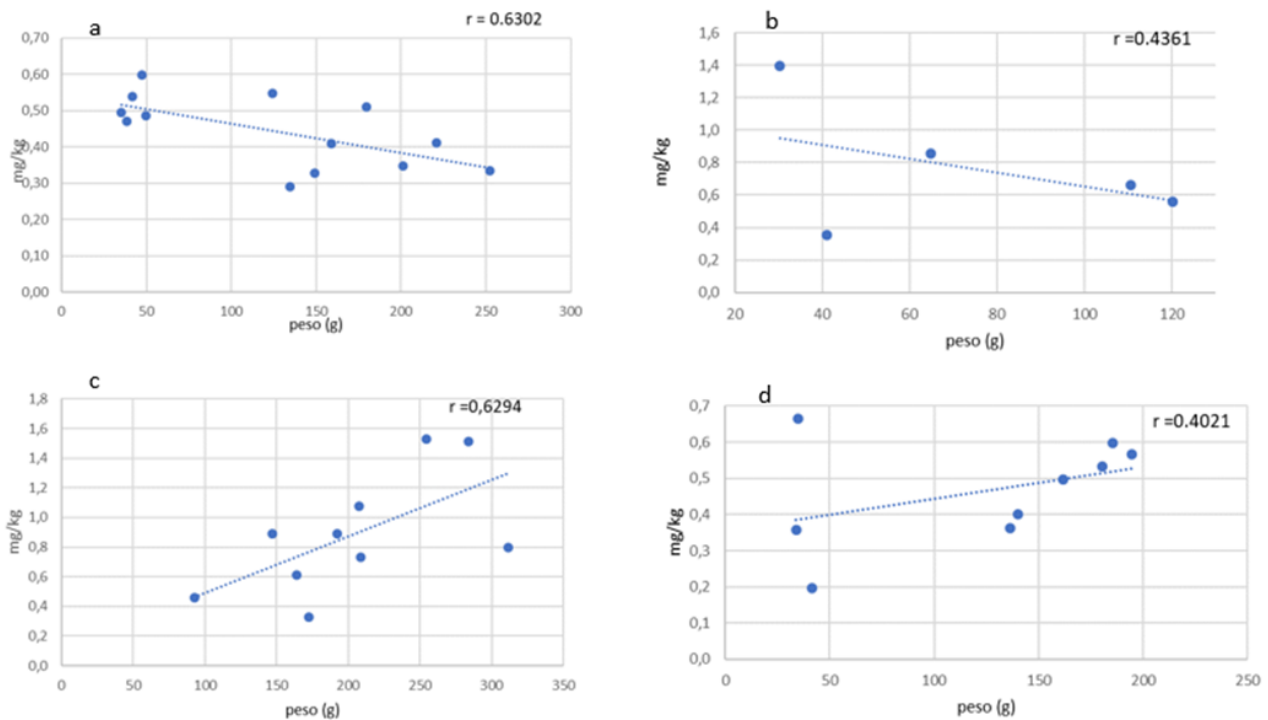


Figura 34 – Correlazione tra concentrazione di mercurio (mg/kg dw) e peso divisi per stagioni: inverno (a), primavera (b), estate (c), autunno (d).

#### 4.1.2.2 - Correlazione tra contenuto di Hg e contenuto di lipidi di *Merluccius merluccius*

La Figura 35 riporta il contenuto di Hg in funzione della percentuale di lipidi degli organismi analizzati. Esiste una correlazione lineare positiva statisticamente significativa tra contenuto di Hg e percentuale di lipidi ( $r=0.6032$ ,  $P<0.05$ ).



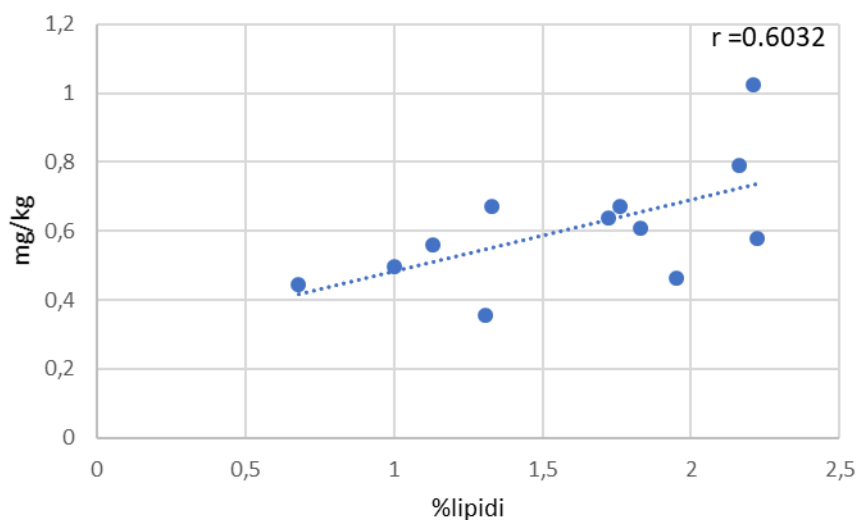


Figura 35 – correlazione Hg - lipidi

## 4.2 – *Mullus barbatus*

### 4.2.1. - Parametri biometrici e tenore in peso secco e lipidi di *Mullus barbatus*

Sono stati analizzati 16 pool di triglia divisi per sesso e per sito di campionamento (costa, largo).

La Tabella 12 riporta la lunghezza media (in cm) e il peso medio (in g) degli esemplari utilizzati per formare i pool.

Tabella 12 Lunghezza media (cm) e peso medio (g) degli esemplari di *Mullus barbatus* utilizzati per formare i pool analizzati.

Sesso	Sito	Giovanili		Adulti		Spawning		Post-spawning	
		Lungh cm	Peso g	Lungh cm	Peso g	Lungh cm	Peso g	Lungh cm	Peso g
Femmine	Costa	11±1	12±3	16±2	43±13	15±2	39±12	15±2	35±13
	Largo	11±1	16±1	17±2	49±12	15±2	36±11	16±2	42±17
Maschi	Costa	10±1	10±3	13±1	26±4	13±1	21±7	13±1	22±5
	Largo	10±1	9±3	13±1	21±5	13±1	26±16	13±1	23±9

Come si può vedere dal Box-Whisker plot di Fig. 36, i giovanili presentano un peso medio significativamente inferiore rispetto agli altri gruppi. Per quanto riguarda gli altri stadi vitali (adulti, spawning e post-spawning), non ci sono differenze statisticamente significative tra i pool di femmine e non si riscontrano differenze statisticamente significative tra i pool di maschi, sia per quanto riguarda il diverso stadio vitale, sia per quanto riguarda il sito di campionamento. I pool di femmine corrispondenti agli stadi vitali adulto, spawning e post-spawning presentano tuttavia sempre un peso medio significativamente maggiore rispetto ai maschi ( $p < 0.0001$ ).

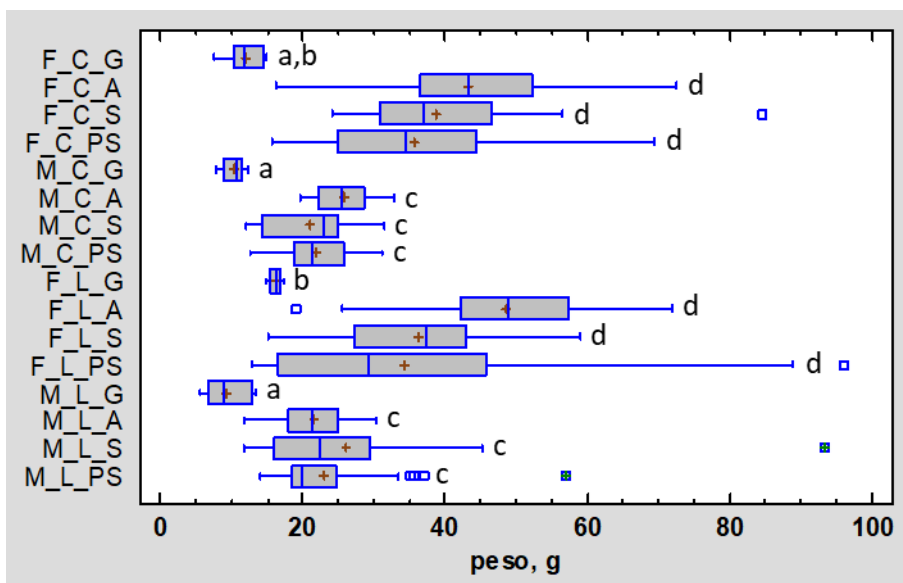


Figura 36 Box-Whisker plot relativo ai pesi dei 16 pool di triglia analizzati. Legenda asse y: la prima lettera indica il sesso (F, femmina; M, maschio), la seconda il sito di campionamento (C, Costa; L, largo), la terza lo stadio vitale (G, giovanile; A, adulto; S, spawning, PS, post-spawning). Lettere diverse indicano differenze statisticamente significative tra gruppi ( $P < 0.0001$ ).

La tabella 13 riporta il valore medio della percentuale di lipidi registrato nei 16 pool analizzati.

Tabella 13 Percentuale di lipidi su peso secco dei pool di *Mullus barbatus* analizzati.

Sesso	Sito	Giovanili	Adulti	Spawning	Post-spawning
		% lipidi dw	% lipidi dw	% lipidi dw	% lipidi dw
Femmine	Costa	5±0.4	25.4±2.2	15.8±2.2	10±0.8
	Largo	14.2±0.5	18.7±2.1	6.4±1.1	25.8±0.1
Maschi	Costa	5±0.4	23.1±0.4	14.1±1.2	7.7±0.3
	Largo	2.2±0.5	12.2±0.7	7.6±0.8	2±0.2

Il valore massimo di lipidi è stato trovato nei campioni femminili post-spawning campionati al largo, con una percentuale pari a 25.8±0.1% dw, mentre il valore minimo è stato trovato nei campioni maschili post-spawning campionati al largo, che presentano un contenuto pari a 2±0.2%.

Nei campioni della costa, la percentuale maggiore di lipidi è stata riscontrata negli esemplari di triglia femminili adulti (25.4±2.2% dw) simile agli esemplari adulti maschili (23.1±0.4% dw), mentre il contenuto minore è stato registrato negli esemplari giovanili, sia maschili che femminili, con un contenuto pari a 5±0.2% dw.

Nei campioni di costa non ci sono differenze statisticamente significative tra maschi e femmine a parità di ciclo vitale. Nei campioni di largo invece le femmine presentano rispetto ai maschi, a parità di ciclo vitale, una percentuale di lipidi dw maggiore, ad esclusione dei gruppi spawning, dove la percentuale di lipidi è simile tra femmine e maschi.

#### 4.2.2 - Concentrazione di Hg in *Mullus barbatus*

La Figura 37 mostra il contenuto medio di Hg (mg/kg dw) nei pool degli organismi suddivisi per sesso, ciclo vitale (giovanili, adulti, spawning e post-spawning), e sito di campionamento (costa o largo).

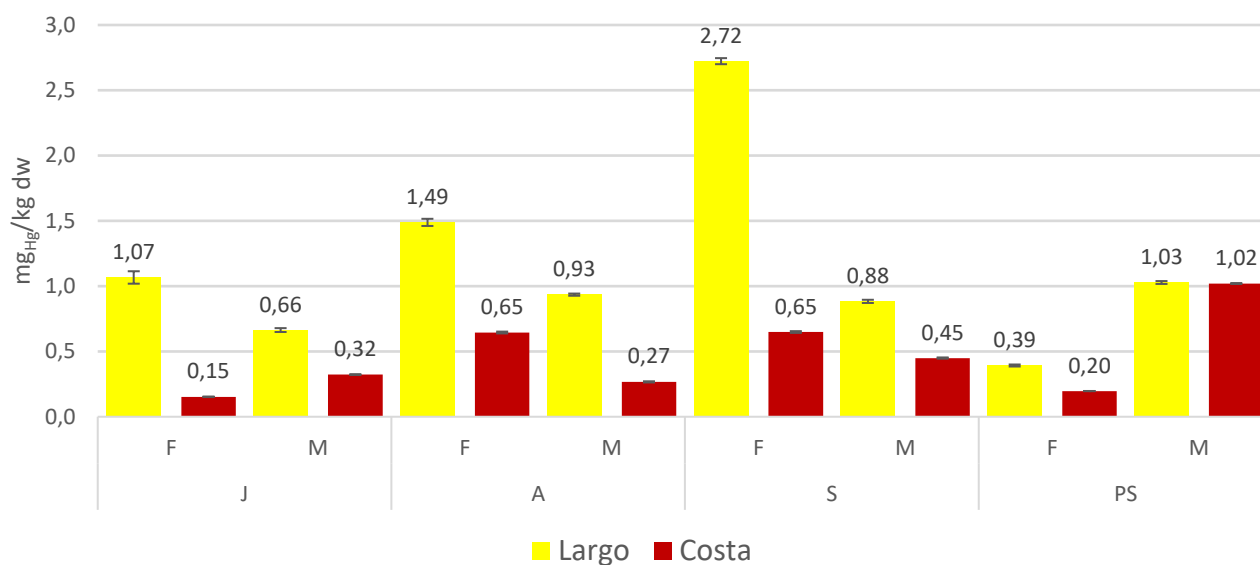


Figura 37 Concentrazione media di mercurio nei campioni dw di *Mullus barbatus* suddivisi per sesso (F= femmina, M=maschio), ciclo vitale (J=giovanili, A=adulti, S=spawning, PS=post-spawning), e sito di campionamento (barre gialle, largo; barre rosse, costa).

I campioni femminili presentano un contenuto di Hg medio pari a  $1.1 \pm 0.9$  mg/kg dw, significativamente più alto ( $P=0.040$ , Kolmogorov-Smirnov test) rispetto al contenuto di Hg nei campioni maschili ( $0.8 \pm 0.3$  mg/kg dw). In particolare, per gli esemplari campionati al largo (vedi Figure 37 e 38), le femmine presentano concentrazioni di Hg significativamente maggiori rispetto ai maschi in tutti gli stadi del ciclo vitale ( $P < 0.05$ ), eccetto per gli esemplari post-spawning, dove il contenuto di Hg nei maschi è

significativamente più alto rispetto alle femmine ( $P < 0.05$ ). Per gli esemplari campionati vicino alla costa adulti e spawning (vedi Figure 37 e 39), le femmine presentano concentrazioni di Hg significativamente maggiori rispetto ai maschi ( $P < 0.05$ ), mentre per gli esemplari giovanili e post-spawning, le femmine presentano un contenuto di Hg significativamente più basso rispetto ai maschi ( $P < 0.05$ ).

Come si può vedere anche nelle Figure 38 e 38 a parità di sesso e ciclo vitale, gli esemplari di triglia campionati al largo (senza distinzione di sesso) presentano concentrazioni di mercurio significativamente ( $P < 0.05$ ) più alte rispetto ai campioni della costa, eccetto che per gli esemplari maschili post-spawning campionati sulla costa e al largo, che presentano valori simili

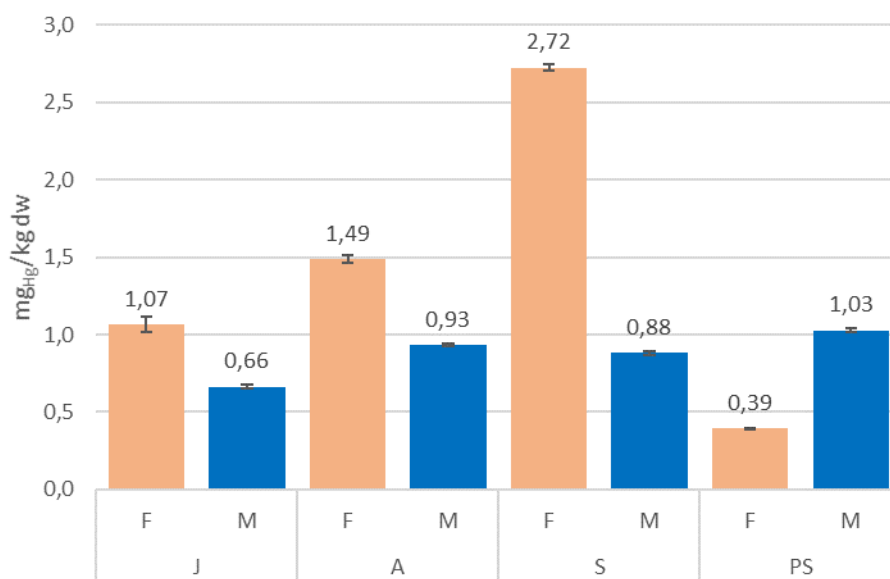


Figura 38 – Concentrazioni di mercurio nei campioni di triglia campionati al largo.

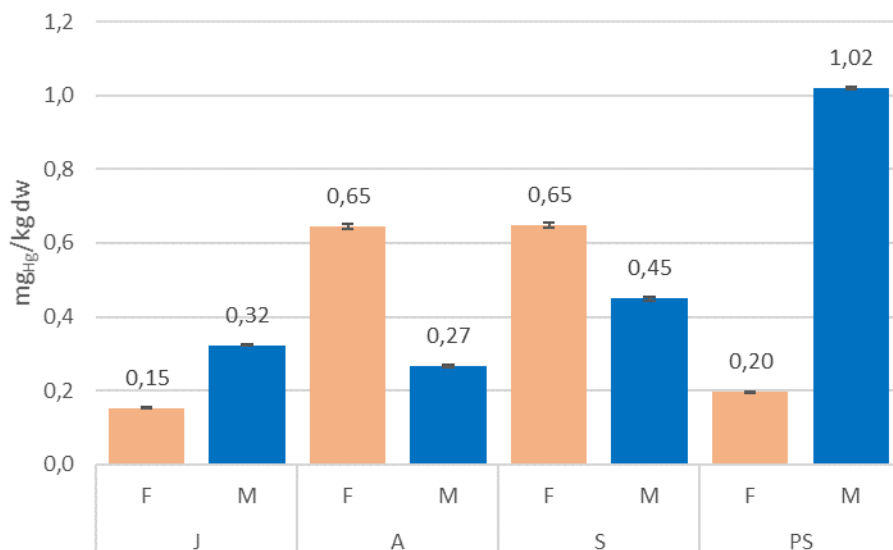


Figura 39 – Concentrazioni di mercurio nei campioni di triglia della costa

Le triglie femmine campionate al largo presentano concentrazioni di mercurio più elevate rispetto ai campioni della costa, con un valore massimo medio di  $2.72 \pm 0.05$  mg/kg dw negli esemplari spawning (Figure 38 e 39).

Le triglie femmine giovanili (J) e post spawning (PS) presentano valori significativamente più bassi di mercurio rispetto alle femmine adulte (A) e spawning (S), sia per i campioni sotto costa che per i campioni presi al largo ( $P < 0.05$ ) (Figure 40 e 41).

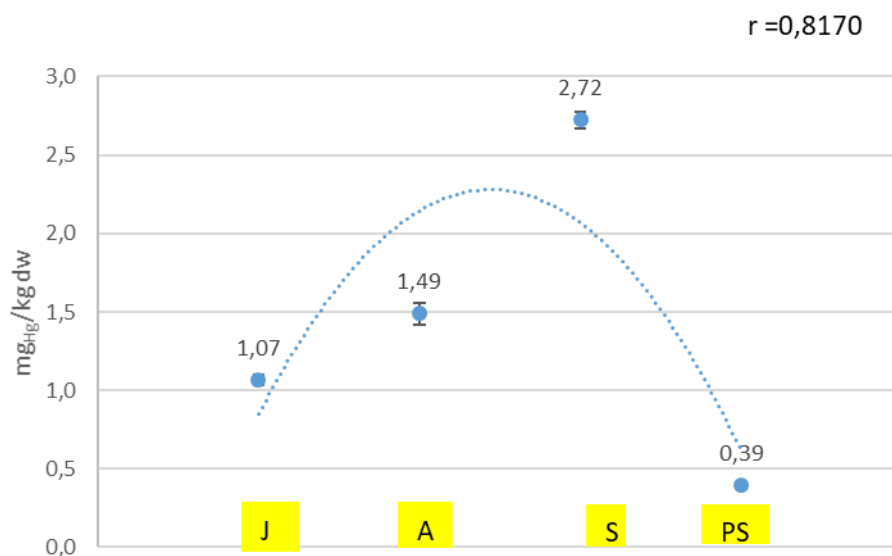


Figura 40 Concentrazioni di mercurio nei campioni femminili del largo in base al ciclo vitale: giovanile (J), adulti (A), spawning (S), post-spawning (PS).

I campioni femminili della costa presentano concentrazioni di mercurio minori rispetto ai campioni del largo, non arrivando a 1 mg/kg e, come nel caso delle triglie campionate al largo, seguono un andamento a campana: si parte dal valore più basso della triglia giovanile con  $0.15 \pm 0.009$  mg/kg dw, seguito dai campioni adulti e spawning con  $0.65 \pm 0.025$  e termina con le triglie post-spawning, che presentano un contenuto pari a  $0.20 \pm 0.003$  mg/kg dw (Figura 41). Il contenuto di Hg sembra essere quindi correlato al ciclo vitale della triglia, dal momento che varia significativamente al variare di quest'ultimo.

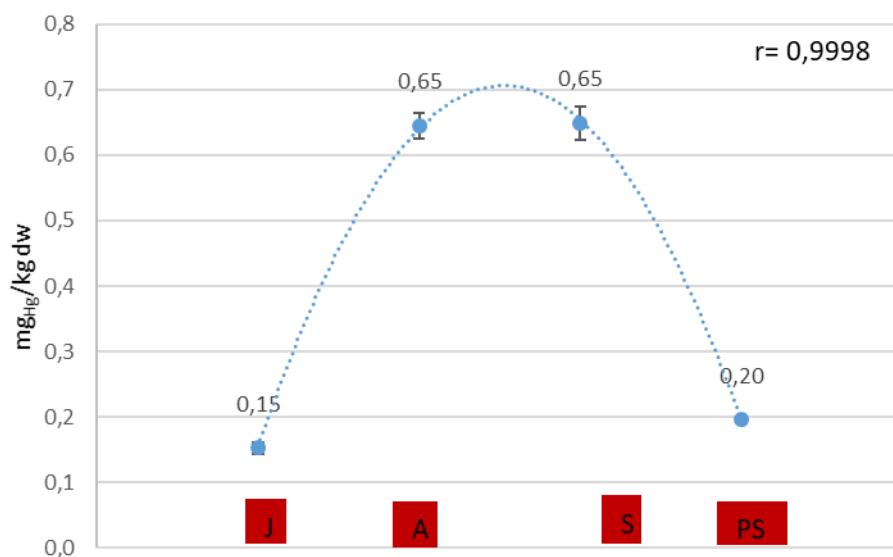


Figura 41 – Concentrazioni di mercurio nei campioni di triglia femminile della costa in base al ciclo vitale: giovanile (J), adulti (A), spawning (S), post-spawning (PS)

Anche i campioni maschili di triglia campionati al largo mostrano concentrazioni di mercurio significativamente maggiori rispetto ai campioni della costa ( $p < 0.05$ ), tranne che per i campioni di triglia post-spawning, che presentano concentrazioni simili (rispettivamente  $1.03 \pm 0.05$  e  $1.02 \pm 0.01$  mg/kg dw). Il valore minimo ( $0.66 \pm 0.05$  mg/kg dw) si trova nel pool di esemplari giovanili, seguito dagli adulti con  $0.93 \pm 0.03$  mg/kg e spawning con  $0.88 \pm 0.04$  mg/kg (Figura 42).



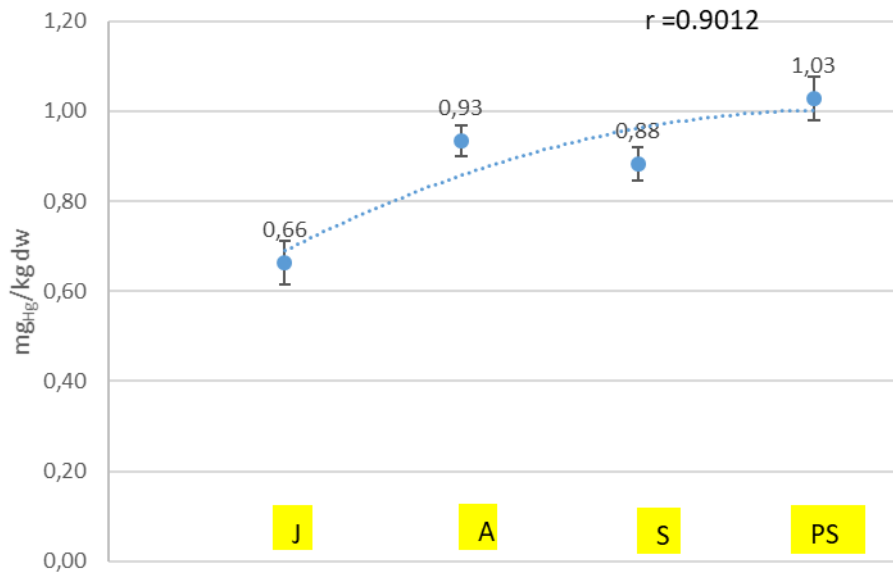


Figura 42 – Concentrazioni di mercurio negli esemplari maschi del largo in base al ciclo vitale: giovanile (J), adulti (A), spawning (S), post-spawning (PS)

I campioni maschili della costa invece presentano un contenuto di Hg pari a  $0.32 \pm 0.005$  mg/kg dw per le triglie giovanili (J),  $0.27 \pm 0.015$  mg/kg dw per gli esemplari adulti (A), e  $0.45 \pm 0.018$  mg/kg dw per i campioni spawning (S) (Figura 43).

Sia per i campioni maschili di costa che per i campioni di largo si registra quindi un aumento significativo della concentrazione di Hg passando dagli esemplari giovanili agli adulti, agli spawning e ai post-spawning.

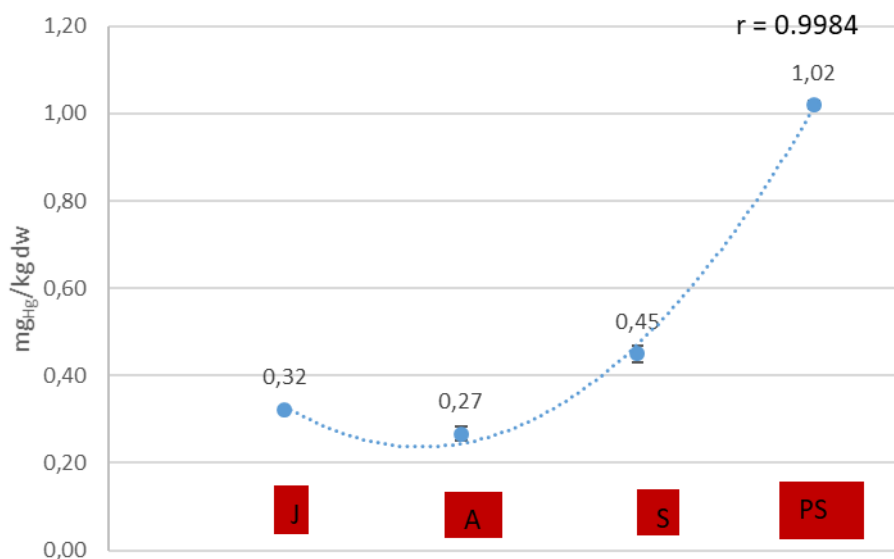


Figura 43 Concentrazioni di mercurio negli esemplari maschi della costa in base al ciclo vitale: giovanile (J), adulti (A), spawning (S), post-spawning (PS).

#### 4.2.2.1 - Correlazione tra contenuto di Hg e peso di *Mullus barbatus*

Non si evidenzia una correlazione statisticamente significativa tra contenuto di Hg e peso secco medio dei gruppi analizzati ( $r=0.2931$ ,  $P=0.2704$ ), né tra concentrazione di Hg e peso umido ( $r=0.38829$ ,  $P=0.1372$ ).

#### 4.2.2.2 -Correlazione tra contenuto di Hg e contenuto di lipidi in *Mullus barbatus*

La percentuale di lipidi è maggiore negli esemplari femminili rispetto agli esemplari maschili, così come la concentrazione di mercurio.

Prendendo in considerazione tutti i campioni, si dimostra una correlazione lineare negativa tra concentrazione di mercurio e percentuale di lipidi ( $r=0.11989$ ) non statisticamente significativa (Figura 44).

Non si dimostra una correlazione statisticamente significativa nemmeno prendendo in considerazione solo gli esemplari campionati al largo ( $r=0.2406$ , Figura 45) o gli esemplari campionati sotto costa ( $r=0.1356$ , Figura 46).

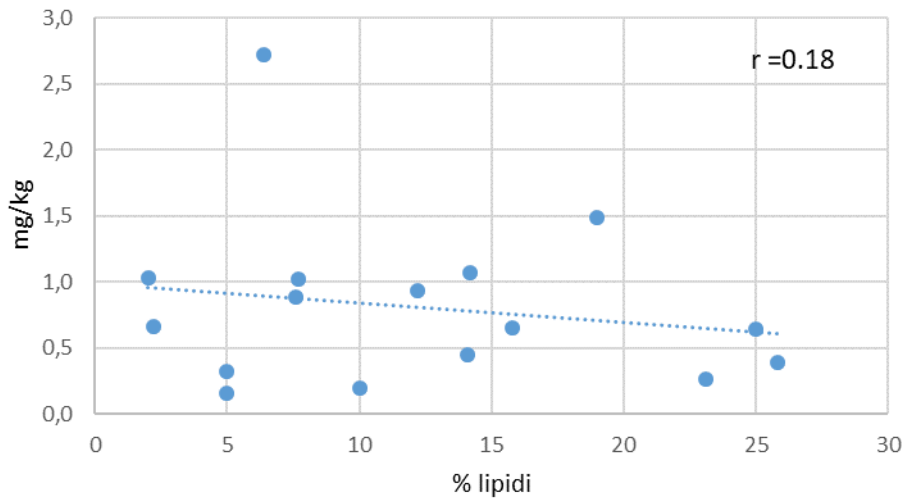


Figura 44 Correlazione tra mercurio e lipidi in tutti i campioni

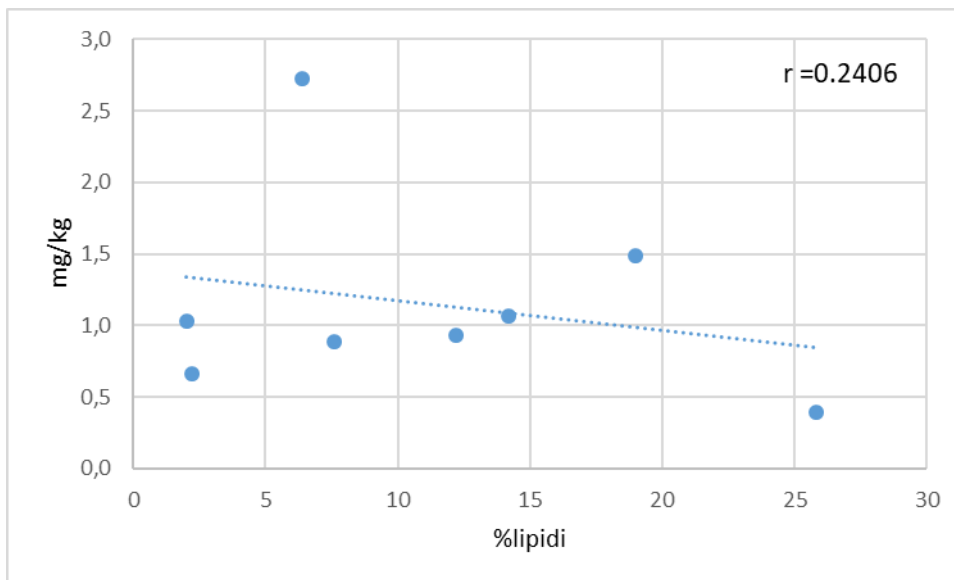


Figura 45 – correlazione tra lipidi e mercurio nei campioni del largo

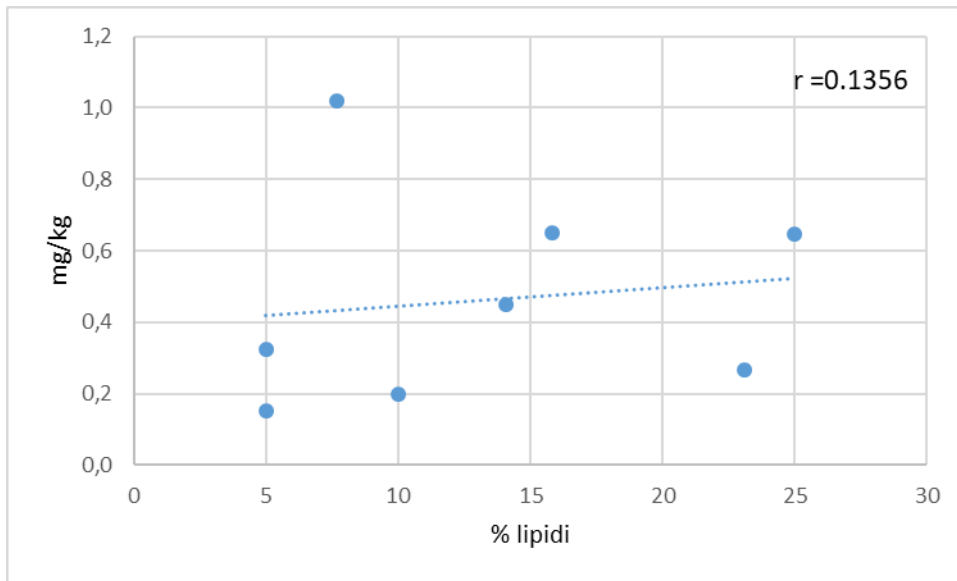


Figura 46 Correlazione tra lipidi e mercurio nei campioni della costa

Per quanto riguarda i livelli massimi di mercurio ammissibili nella triglia, la commissione europea ha fissato come livello massimo tollerabile di mercurio un valore di 1 mg/kg ww (Regolamento CE n. 1881/2006).

Nessuno degli esemplari di triglia supera il livello imposto dal limite di legge, come mostrato in Figura 47.

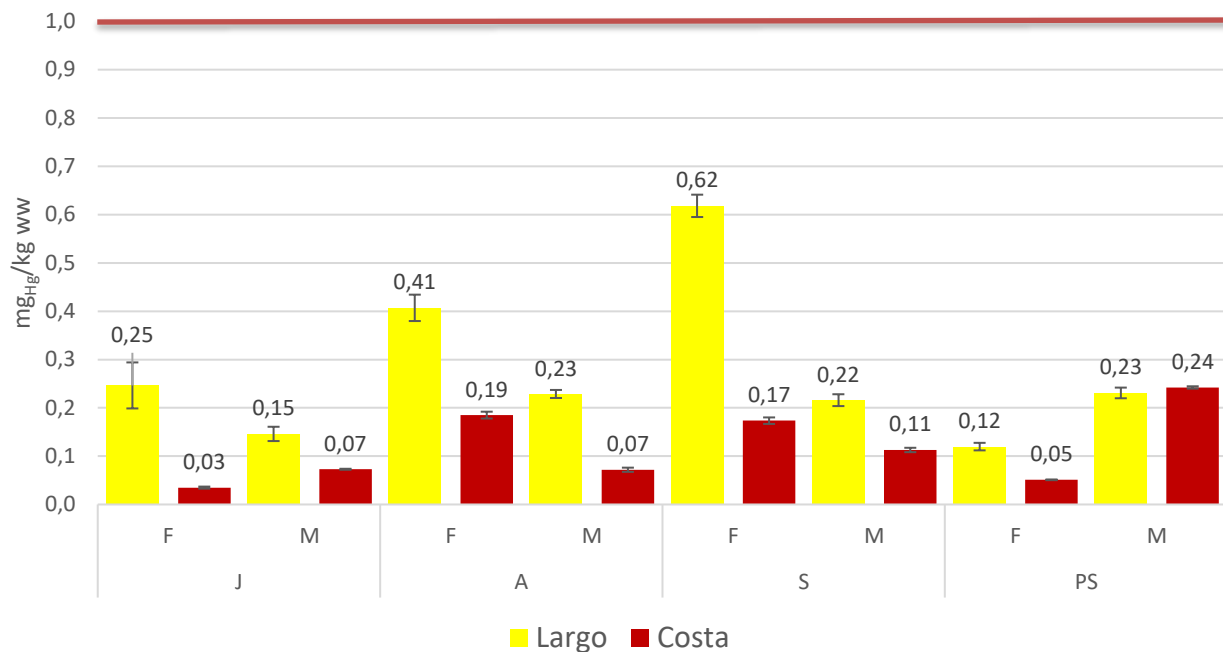


Figura 47 Concentrazione media di mercurio (mg/kg ww) nei campioni di *Mullus barbatus* suddivisi per sesso (F= femmina, M=maschio), ciclo vitale (J=giovanili, A=adulti, S=spawning, PS=post-spawning), e sito di campionamento (barre gialle, largo; barre rosse, costa). Linea rossa: limite di legge (1 mg/kg ww, Reg. CE n. 1881/2006).

## 5. DISCUSSIONE

In questo lavoro di tesi si è voluto determinare la concentrazione di mercurio totale nel filetto edibile di nasello (*Merluccius merluccius*) e di triglia (*Mullus barbatus*) provenienti dal Mar Adriatico, al fine di valutarne la sicurezza alimentare. Il mercurio è, infatti, un metallo pesante conosciuto per la sua elevata tossicità per gli organismi biologici, che esprime in particolar modo nella sua forma metilata (metilmercurio,  $(\text{CH}_3\text{Hg}^+)$ , e che è in grado di biomagnificare lungo la catena trofica. Di conseguenza gli organismi acquatici (in particolare i pesci di grossa taglia) costituiscono la fonte di esposizione principale per gli esseri umani.

Proprio grazie alla capacità di accumulo del Hg, si è studiata una possibile correlazione tra contenuto di Hg e peso degli organismi analizzati. Il metilmercurio inoltre, presentando un'elevata solubilità nei confronti dei lipidi (lipofilia), mostra la tendenza ad accumularsi preferibilmente in questo comparto. A tal proposito, è stata effettuata un'analisi della percentuale di lipidi di nasello e triglia, al fine di valutare una possibile correlazione tra quantità di lipidi estratti presenti e concentrazione totale di mercurio all'interno dei campioni di filetto edibile.

Diversi autori hanno posto l'accento sul fatto che il contenuto di mercurio nei pesci è il risultato di una complessa interazione tra fattori fisiologici e ambientali, tra cui ecologia alimentare, habitat, velocità di accrescimento, tasso di alimentazione, indice metabolico, strutturazione trofica e parametri chimici dell'acqua.

La tabella 14 mostra i dati di questo studio ed un confronto con i dati di letteratura. Per quanto riguarda *Merluccius merluccius*, i nostri dati sono consistenti con i dati di letteratura relativamente ad esemplari provenienti dal Mar Mediterraneo, mentre sono più alti rispetto ai livelli di Hg riscontrati in altre aree, come ad esempio nell'Oceano Atlantico. Il mar Mediterraneo è più ricco di mercurio in quanto nei fondali ci sono grandi depositi di cinabro (HgS) (Cossa et al., 2005), pari a circa il 65% delle riserve mondiali di cinabro, anche se copre solo l'1% degli oceani mondiali: quindi quest'area è influenzata dalla contaminazione di mercurio da risorse naturali, oltre che antropogeniche. Per queste ragioni questo ambiente è molto interessante in quanto sito di bioaccumulo di Hg per il biota.

Anche per *Mullus barbatus* si sono ottenuti dati in linea con i dati di letteratura.

In questo lavoro di tesi si è visto come la triglia presenta concentrazioni maggiori di mercurio ( $0.81 \pm 0.02$  mg/kg dw, min-max 0.15-2.72 mg/kg dw) rispetto al nasello ( $0.64 \pm 0.04$  mg/kg dw, min-max 0.29-1.53 mg/kg dw).

È chiaramente documentato come le specie bentoniche mostrano livelli più elevati di mercurio totale rispetto agli organismi pelagici, confermando il processo di sedimentazione e persistenza di questo metallo nelle profondità marine. Molto spesso come dimostrato da Perugini et al. (2013), la presenza di Hg dipende dall'habitat: si è infatti visto come pesci di taglia più piccola come i naselli e le triglie presentavano una concentrazione di mercurio maggiore rispetto ai pesci di taglia più grande.

Tabella 14 Concentrazione di mercurio in *M. merluccius* e *M. barbatus*: confronto con riferimenti bibliografici.

Specie, area di campionamento	Peso (g), lunghezza (cm)	Hg (mg/kg dw) M±DS (min-max)	Riferimenti
<b><i>Merluccius merluccius</i></b>			
Mar Adriatico		0.62±0.01	Questo studio
Golfo di Lione (Mediterraneo)	10-2605g 6-70 cm	1.67±2.03 (0.11 – 14.31) (n=442)	Cossa et al., 2012
Baia di Biscay (Northeastern atlantico)	13-860g 12-51cm	0.30±0.13 (0.04-0.66) n=71	Cossa et al., 2012
Mar Adriatico	5-260g	0.90±0.60 (0.20-2.40) n=19	Storelli et al., 2005
Mar Ionio	10-475g	0.45±0.40	Senn et al., 2009
Mar Tirreno	11-62cm	0.4-16 n=108	Barghigiani et al., 2000
Mar Adriatico centrale	66.86±7.40 g 20.28±0.66 cm	0.59±0.14 (0.04-1.99) n=14	Perugini et al., 2013
<b><i>Mullus barbatus</i></b>			
Mar Adriatico		0.81±0.02	Questo studio
Mar Adriatico centrale	34.96±3.71 g 13.75±0.44 cm	0.48±0.09 0.05 – 1.07 n=14	Perugini et al., 2013
Sud Adriatico		0.31±0.13 0.10 – 0.63	Storelli et al., 2000
Golfo di Lione (Francia)	14.8±3.6 cm	1.11±1.15	Harmelin-Vivien et al., 2009
Mar ligure		0.122 ±0.01	Conti et al. 2012
Mar ligure		0.40±0.15	Copat et al., 2012
Mar Ionio		0.40±0.420	Storelli et al., 2005
Mar Adriatico		0.490±0.540	Storelli et al., 2005
Mar Egeo	10.6 – 18.6 cm	0.45±0.23	Kucuksezgin et al., 2011
Mar delle Baleari (Spagna)	11.7-14.2 cm	2.28±1.00	Hernandez-Hernandez et al., 1990



Infatti, naselli con lunghezza  $20.3 \pm 0.7$  cm e peso di  $67 \pm 7$  g hanno una concentrazione di mercurio pari a  $0.59 \pm 0.14$  mg/kg dw, a differenza dello sgombro che con un peso di  $230 \pm 23$  g presenta una concentrazione di mercurio di  $0.36 \pm 0.09$  mg/kg dw. Anche in un altro studio la triglia, specie bentonica, mostra livelli più elevati di mercurio rispetto al nasello che è un pesce pelagico, rispettivamente  $0.49 \pm 0.54$  mg/kg contro  $0.18 \pm 0.12$  mg/kg (Storelli et al., 2004).

Oltre che l'habitat, si è visto che anche l'alimentazione del pesce influisce sul contenuto di mercurio (Hall et al., 1997): le triglie seguono, infatti, una dieta mesocarnivora basata su invertebrati bentonici come crostacei e anellidi ma, con l'incremento della taglia, cambia la dieta, consumando più gamberetti e anellidi ed evitando piccoli crostacei.

Solitamente gli individui più adulti mostrano livelli di mercurio più elevati rispetto agli esemplari più giovani come conseguenza di un più lungo tempo di esposizione. (Storelli et al., 2000). Per quanto riguarda gli esemplari di nasello, sono state trovate differenze statisticamente significative tra individui femmine non maturi (più giovani, contenuto di Hg più basso) e individui maturi maschili e femminili (adulti, contenuto di Hg più alto) mentre non ci sono differenze statisticamente significative tra individui maturi e maschi non maturi. Il ciclo vitale influisce significativamente anche sul contenuto di Hg nella triglia. In genere, i campioni di triglia femmine presentano concentrazioni maggiori di mercurio rispetto ai maschi, a parità di ciclo vitale,

probabilmente dovuto al fatto che crescono più dei maschi. Infatti come riportato in letteratura le taglie più grandi (oltre i 20 cm), sono femmine e, come descritto nei risultati di questo lavoro, le triglie femmine adulte, spawning e post-spawning analizzate presentano un peso maggiore rispetto agli esemplari maschili. Il contenuto di Hg nelle femmine aumenta passando dai giovanili, che presentano un contenuto minimo, agli adulti e agli spawning (contenuto simile tra loro), per poi calare drasticamente negli esemplari post-spawning. Probabilmente, con la deposizione delle uova, le femmine si liberano di grandi quantità di Hg, mettendo in atto un processo di detossificazione. Nei maschi invece il contenuto aumenta continuamente passando dai giovanili, agli adulti, ai spawning e infine ai post-spawning.

Alcuni autori hanno dimostrato, soprattutto per le specie predatrici, una relazione positiva tra taglia del soggetto e il suo contenuto di mercurio anche se questa relazione non è sempre presente (Burger e Gochfeld, 2011). Nel nostro studio non sono state trovate correlazioni tra contenuto di Hg e peso degli organismi né per i naselli né per le triglie.

Sia nei maschi che nelle femmine, le concentrazioni maggiori di mercurio ww sono presenti nei campioni del largo e sono quasi tutte simili tra loro. Questo probabilmente perché le triglie giovanili con il fenomeno del reclutamento tendono a spostarsi verso il largo dove sono già presenti gli esemplari adulti. Per quanto riguarda il contenuto di Hg in relazione alla percentuale di lipidi, è stata trovata una correlazione significativa

( $r=0.6032$ ,  $p<0.05$ ) tra Hg e lipidi nel nasello. Le triglie invece, pur presentando le femmine una concentrazione maggiore di Hg rispetto ai maschi, così come una percentuale di lipidi maggiore (solo per gli esemplari campionati al largo), non hanno mostrato una correlazione statisticamente significativa tra concentrazione di Hg e % di lipidi. Il mercurio, nella sua forma metilata (metilmercurio), presenta un'elevata solubilità nei confronti dei lipidi e tende ad accumularsi in questo comparto, pertanto ci si sarebbe aspettati di trovare una relazione tra contenuto di Hg e percentuale di lipidi che non c'è probabilmente perché la concentrazione di mercurio non è così elevata visto che i pesci trattati non sono grandi pelagici. Probabilmente, il fattore più significativo che influenza la presenza di Hg nelle triglie è il ciclo vitale, come abbiamo precedentemente discusso.

Sia gli esemplari di *Merluccius merluccius* che gli esemplari di *Mullus barbatus* presentano una concentrazione di mercurio al di sotto dei limiti di legge, fissato dalla normativa europea a 0.5 mg/kg ww per il nasello e 1 mg/kg ww per la triglia (Regolamento CE n. 1881/2006, che definisce i tenori massimi di alcuni contaminanti nei prodotti alimentari, e successive modifiche).

In base ai limiti espressi dal regolamento sopra citato, il consumo di nasello settimanale, per non superare il livello massimo tollerabile di mercurio in un uomo di 70 kg, pari a 300 microgrammi, potrà raggiungere 7 porzioni di 200 grammi di parte edibile.

Mentre per la triglia, considerando che i campioni analizzati presentano una media di concentrazione di mercurio pari a  $0.81 \pm 0.02$  mg/kg dw, il giusto apporto settimanale per non superare il massimo livello tollerabile di 300 microgrammi per un uomo di 70 kg sarà pari al consumo di 6 porzioni da 200 grammi.

Pertanto, il consumo di nasello e triglia non presentano rischi legati ad un'eccessiva assunzione di Hg, e risultano essere un prodotto sicuro dal punto di vista del rischio chimico.

## 6. CONCLUSIONI

In questo studio di tesi è stata determinata la concentrazione di mercurio (Hg) nel filetto di nasello (*Merluccius merluccius*) e di triglia (*Mullus barbatus*) del mar Adriatico.

Il nasello presenta una concentrazione media di Hg pari a  $0.62 \pm 0.2$  mg/kg, mentre la triglia mostra una concentrazione media di  $0.81 \pm 0.1$  mg/kg. È stata trovata una correlazione significativa tra concentrazione di Hg e peso solo per i naselli femmina campionati in estate e in inverno, mentre per gli altri gruppi di naselli femmina campionate in primavera e autunno, e per i naselli di sesso maschile, non si è evidenziata alcuna correlazione con il peso. Il peso non influenza nemmeno la concentrazione di Hg delle triglie. Non è stata dimostrata alcuna correlazione tra contenuto di Hg e percentuale di lipidi né per i naselli né per le triglie. Sembra quindi che il contenuto di Hg nei pesci studiati dipenda prevalentemente dall'habitat e dal ciclo vitale.

In base al contenuto di Hg, tenendo conto delle indicazioni della dieta mediterranea che prevede di mangiare pesce almeno 3 volte a settimana, il consumo di nasello o triglia non presentano rischi legati ad un'eccessiva assunzione di Hg, e risultano essere pertanto un prodotto sicuro.

## BIBLIOGRAFIA

- Annibaldi A., Truzzi C., Carnevali O., Pignalosa P., Api M., Scarponi G. and Illuminati S., 2019 Determination of Hg in Farmed and Wild Atlantic Bluefin Tuna (*Thunnus thynnus* L.) Muscle.
- Aston, S.R.; Fowler, S.W. Mercury in the open Mediterranean: Evidence of contamination? *Sci. Total Environ.* 1985, 43, 13–26.
- Bodin N., Lesperance D., Albert R., Hollanda S., Michaud P., Degroote M., Churlaud C., Bustamante P. “Trace elements in oceanic pelagic communities in the western Indian Ocean” *Chemosphere*, 174 (2017) 354-362.
- Bombace G., Lucchetti A. (2011). *Elementi di biologia della pesca*. Edagricole. 275-359.
- Bosch A. C., O’Neill B., Sigge G. O., Kerwath S. E., Hoffman L. C. “Mercury accumulation in Yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) with regards to muscle type, muscle position and fish size” *Food Chemistry*, 190 (2016) 351–356.
- Cabañero A. I., Carvalho C., Madrid Y., Batoréu C., Cámara C. “Quantification and speciation of mercury and selenium in fish samples of high consumption in Spain and Portugal” *Biological Trace Element Research*, 103 (2005).

- Cabañero A. I., Madrid Y., Cámara C. “Mercury–selenium species ratio in representative fish samples and their bioaccessibility by an in vitro digestion method” *Biological Trace Element Res.*, 119 (2007) 195–211.
- Coccioni, R.; Bellagamba, M.; Di Leo, R.; Savelli, D.; Tramontana, M. Latest Pleistocene-Holocene paleoclimatic record and sea level changes in the central Adriatic Sea: foraminiferal evidence from core A 85-10. *Il Quaternario* 1992, 5, 147–162
- Colantoni, P.; Asioli, A.; Borsetti, A.M. Evoluzione morfo-sedimentaria recente del Mare Adriatico. Proceeding of the 9° Congresso AIOL, S. Margherita Ligure, Italy, 20–23 November 1990; pp. 17–24
- Colantoni, P.; Tramontana, M.; Tedeschi, R. Contributo alla conoscenza dell’Avampese Apulo: struttura del Golfo di Manfredonia (Adriatico Meridionale). *Giorn. Geol.* 1990, 52, 19–32.
- Conti, G.O., Copat, C., Ledda, C. *et al.* Evaluation of Heavy Metals and Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in *Mullus barbatus* from Sicily Channel and Risk-Based Consumption Limits. *Bull Environ Contam Toxicol* **88**, 946–950 (2012)
- D. Cossa, M. Harmelin-Vivien, C. Mellon-Duval, V. Loizeau, B. Averty, S. Crochet, L. Chou, and J.-F. Cadiou Influences of Bioavailability, Trophic Position, and Growth on Methylmercury in Hakes (*Merluccius merluccius*) from Northwestern Mediterranean and Northeastern Atlantic, 2012.

- Covelli, S.; Faganelli, J.; Horvat, M.; Brambati, A. Mercury contamination of coastal sediments as the result of long-term cinnabar mining activity (Gulf of Trieste, Northern Adriatic Sea). *Appl. Geochem.* 2001, 16, 541–558
- Crecelius, E.A.; Bothner, M.H.; Carpenter, R. Geochemistries of Arsenic; Antimony, Mercury and Related Elements in sediments of Puget Sound. *Environ. Sci. Technol.* 1975, 9, 325–333.
- P. Cresson , M. Bouchoucha , F. Miralles , R. Elleboode , K. Mahé , N. Maruszczak , H. Thebault ,D. Cossa ,2014. Are red mullet efficient as bio-indicators of mercury contamination? A case study from the French Mediterranean. *Marine Pollution Bulletin* 91 (2015) 191–199
- Curzi, P.V.; Tomadin, L. Dinamica della sedimentazione pelitica attuale ed olocenica nell'Adriatico centrale. *Giornale di Geologia* 1987, 49, 101–111.
- Di Bella G., Potortà A. G., Lo Turco V., Bua D., Licata P., Cicero N., Dugo G. “Trace elements in *Thunnus thynnus* from Mediterranean sea: benefit-risk assessment for consumer” *Food Additives & Contaminants: Part B: Surveillance*, (2015).
- Dolenc, T.; Faganelli, J.; Pirc, S. Major, Minor and Trace Elements in Surficial Sediments from the Open Adriatic Sea: A Regional Geochemical Study. *Geol. Croat.* 1998, 51, 59–73
- Droghini E, Annibaldi A, Prezioso E, Tramontana M, Frapiccini E, De Marco R, Illuminati S, Truzzi C, Spagnoli F., 2019. Mercury Content in Central and



Southern Adriatic Sea Sediments in Relation to Seafloor Geochemistry and Sedimentology.

- EC. (2006). Commission Regulation (EC) No. 1881/2006 of 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. Official Journal of the European Union L, 364, 5–24.
- EC. (2008). Commission Regulation (EC) No. 629/2008 of 2 July 2008 amending Regulation (EC) No. 1881/2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. Official Journal of the European Union L, 173, 6–9.
- Eto K, Takizawa Y, Akagi H, Haraguchi K, Asano S, Takahata N, Tokunaga H, Differential diagnosis between organic and inorganic mercury poisoning in human cases - the pathologic point of view. *Toxicol Pathol.* 1999;27(6):664-71.
- European Parliament; Council of the European Union. Directive No 60/ 2000 of 23 October 2000 establishing a framework for Community action in the field of water policy. *Off. J. Eur. Union* 2000, L 327, 1–72, 22.12.2000
- European Food Safety Authority (EFSA), 2012, “Scientific Opinion on the risk for public health related to the presence of mercury and methylmercury in food”, EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM), Parma, Italy

- Fabbri, D.; Gabbianelli, G.; Locatelli, C.; Lubrano, D.; Trombini, C.; Vassura, I. Distribution of Mercury and other heavy metals in core sediments of the Northern Adriatic Sea. *WaterAir Soil Pollut.* 2001, 129, 143–153.
- FAO, 1990 Cohen, D.M.; Inada, T.; Iwamoto, T.; Scialabba, N. FAO species catalogue. Vol. 10. Gadiform fishes of the world (Order Gadiformes). An annotated and illustrated catalogue of cods, hakes, grenadiers and other gadiform fishes known to date. FAO Fisheries Officers Regional Fisheries Councils and Commissions Selector SC FAO Fisheries Synopsis. No. 125, Vol. 10. Rome, FAO. 1990. 442 p
- Förstner, U.; Salomons, W. Trace metals analysis in polluted sediments. *Env. Technol. Lett.* 1980, 1, 494–517.
- Frogia, C. (1988) Food preferences of juvenile Red mullet *Mullus barbatus* in Western Adriatic nursery ground (Osteichthyes: Mullidae) *Rapp. Comm. int. Mer Medit.*, 31(2): 263.
- Ginsberg, G. L., & Toal, B. F. (2009). Quantitative approach for incorporating methylmercury risks and omega-3 fatty acid benefits in developing species-specific fish consumption advice. *Environmental Health Perspectives*, 117, 267–275
- Gray S. J., 2002, “Biomagnification in marine systems: the perspective of an ecologist”, *Marine Pollution Bulletin*, 45, pp. 46–52.

- Gu, B.; Bian, Y.; Miller, C.E.; Dong, W.; Jiang, X.; Liang, L. Mercury reduction and complexation by natural organic matter in anoxic environments. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 2011, 108, 1479–1483
- Harmelin-Vivien M., D. Cossa b, S. Crochet c, D. Bařnaru a, Y. Letourneur , C. Mellon-Duval Difference of mercury bioaccumulation in red mullets from the north-western Mediterranean and Black seas, 2009.
- Has-Schon, E., Bogut, I., & Strelec, I. (2006). Heavy metal profile in five fish species included in human diet, domiciled in the end flow of River Neretva (Croatia). Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 50, 545–551.
- ISMEA (2005), Osservatorio consumi ittici – Consumi domestici, report 9 gennaio-20 agosto 2005. Roma
- ISMEA 2008. Il mercato dei prodotti ittici freschi in Italia
- Kaneko J. J., Ralston N. V. C. “Selenium and mercury in pelagic fish in the central north Pacific near Hawaii” Biol. Trace Elem. Res., 119 (2007) 242–254.
- F. KUCUKSEZGIN\*, O. ALTAY, E. ULUTURHAN and A. KONTAS  
Evaluations of heavy metal pollution in sediment and *Mullus barbatus* from the Izmir Bay (Eastern Aegean) during 1997–2009

- Kumamoto University Study Group (1968). Pathology of Minamata disease. In: Minamata Disease, M Kutsuna (ed). Shuhan, Kumamoto, Japan, pp. 141-252
- Lloris D., Matallanas J., Oliver P. (2005) Hakes of the world (Family Merlucciidae). FAO Species Catalogue for Fishery Purpose n° 2. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), Rome.
- Milatou N., Dassenakis M., Megalofonou P. “Do fattening process and biological parameters affect the accumulation of metals in Atlantic bluefin tuna?” Food Additives & Contaminants (2015).
- Olmedo P., Pla A., Hernández A. F., Barbier F., Ayouni L., Gil F. “Determination of toxic elements (mercury, cadmium, lead, tin and arsenic) in fish and shellfish samples. Risk assessment for the consumers” Environment International, 59 (2013) 63–72.
- Perugini, M., Visciano, P., Manera, M. et al. Heavy metal (As, Cd, Hg, Pb, Cu, Zn, Se) concentrations in muscle and bone of four commercial fish caught in the central Adriatic Sea, Italy. Environ Monit Assess 186, 2205–2213 (2014)
- Piani, R.; Covelli, S.; Biester, H. Mercury contamination in Marano Lagoon (Northern Adriatic Sea, Italy): Source identification by analyses of Hg phases. Appl. Geochem. 2005, 20, 1546–1559.
- Pigorini, B. Sources and dispersion of recent sediments of the Adriatic Sea. Mar. Geol. 1968, 6, 187–229.

- Ravichandran, M. Interactions between mercury and dissolved organic matter- a review. *Chemosphere* 2004, 55, 319–331.
- Sabatella E., Piccinetti C., 2005. Example of capacity assessment of a Mediterranean fishery and relevant bio-economic indicators. In: *AdriaMed*. 2005. Adriatic Sea Small-scale Fisheries. Report of the AdriaMed Technical Consultation on Adriatic Sea Small-S
- Savelli, D.; Tramontana, M.; Wezel, F.C. Cyclic sedimentation and erosion of quaternary sedimentary wedges off Gargano Promontory (Southern Adriatic Sea). *Boll. Oceanogr. Teor. Appl.* 1990, 8, 163–175
- Serena F. 2005. Field identification guide to the sharks and rays of the Mediterranean and Black Sea. *FAO Species Identification Guide for Fishery Purposes*. Rome, FAO.
- Silva, J.P., Hamza, C., Martinos, H., 2014. Strategic environmental assessment Adriatic-Ionian operational programme 2014-2020. *MetisGmbH*, Vienna, 90 pp
- Skyllberg U., Bloom P.R., Lin C. M., Bleam W.F., 2006, Complexation of Merccury (II) in soil organic matter: EXAFS evidence for linear two coordination with reduced sulfure groups. *Environmental Science & technology* 40, 4174 – 4180.

- Spagnoli, F.; Dinelli, E.; Giordano, P.; Marcaccio, M.; Zaffagnini, F.; Frascari, F. Sedimentological, biogeochemical and mineralogical facies of Northern and Central Western Adriatic Sea. *J. Mar. Syst.* 2014, 139, 183–203
- Tomadin, L. Sedimentary fluxes and different dispersion mechanisms of the clay sediments in the Adriatic Basin. *Rend. Fis. Acc. Lincei S.* 2000, 9, 161–174.
- Trincardi, F., Cattaneo, A., Asioli, A., Correggiari, A., Langone, L., 1996. Stratigraphy of the lateQuaternary deposits in the central Adriatic basin and the record of short-term climatic events. *Mem. Ist. Ital. Idrobiol.* 55, 39-70.
- Vrgoč N., Arneri E., Jukić-Peladić S., Krstulović Šifner S., Mannini P., Marčeta B., Osmani K., Piccinetti C., Ungaro N. (2004) Review of current knowledge on shared demersal stocks of the Adriatic Sea. *AdriaMed Technical Documents No.12 GCP/RER/010/ITA/TD-12*
- <http://www.fao.org/news/story/it/item/177857/icode/>

