

Lead and other heavy metals (cadmium and mercury) accumulation in bivalve mollusks (*Mytilus galloprovincialis*, *Ruditapes* spp. and *Crassostrea gigas*) sampled in Sardinia in 2008-2012

Pierluigi Piras,¹ Giannina Chessa,² Maurizio Cossu,² Gianuario Fiori,² Patrizia Piras,² Giuseppe Ledda²

¹Scuola di Dottorato di Ricerca in Produzione e Sicurezza degli Alimenti di Origine Animale, Dipartimento di Biologia Animale, Università degli Studi di Sassari; ²Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sardegna G. Pegreff, Sassari, Italy

Abstract

The Sardinian shellfish farming, like the national, is mainly focused on mussels and carpet-shell clams, still less on cupped oyster farming. After Olbia's Gulf, various lagoon areas along the coastal perimeter have been interested to shellfish farming. They are transitional waters, whose state of pollution must be evaluated both as ecosystem's *health* and as directly/indirectly human risk. This also applies to heavy metals such as lead, cadmium and mercury, arising both from anthropogenic that geological-natural activity. The aim of the present study is to investigate the variability of the concentrations of these metals in different mollusks to make a comparative assessment, detect trends (over the five-years or cyclic-recurring) and identify hot spots. In 2008-2012, 984 samples have been analysed by inductively coupled plasma mass spectrometry technique. Of them, 599 in pre-marketing (for classification of production areas or their monitoring) and the remaining during marketing. The difference between the average levels of the three metals in the different mollusks species was statistically significant, with $Pb > Cd > Hg$, and there was evidence of a gradual downward trend, albeit moderate, in the contamination levels, with a significant seasonality in concentrations levels, of lead in particular. Also comparisons between the bio-monitored coastal areas were statistically different. Since the samples were representative of the entire production of bivalve mollusks in Sardinia and the contamination allowable limits have never been exceeded in the products marketed, it can be concluded that these products are safe, pointing out that maintenance of monitoring/surveillance plans provi-

des useful information species-dependent, site-specific and temporal trends.

Introduzione

La produzione mondiale di molluschi bivalvi si è attestata su 13 milioni di tonnellate annue, circa un quinto del complessivo dell'acquacoltura, e l'impatto economico della sola molluschicoltura è rilevante anche all'interno dell'Unione Europea (UE), dove la Spagna è il maggior produttore con 270 mila tonnellate/anno, cui segue la Francia con 200 mila tonnellate, e l'Italia con circa 130 mila tonnellate di produzione media annua (ISMEA, 2007). I $\frac{3}{4}$ della produzione nazionale sono riferiti ai mitili, il restante $\frac{1}{4}$ alle vongole vereci, mentre sono marginali i quantitativi di ostriche. La molluschicoltura nazionale è quindi fondamentalmente legata a due specie: la cozza o mitilo mediterraneo (*Mytilus galloprovincialis*) e la vongola verace alloctona (*Ruditapes philippinarum*); il resto è rappresentato da pochi tentativi di gestire in semiestensivo la vongola verace autoctona (*Ruditapes decussatus*) e di sviluppare l'ostricoltura allevando l'ostrica concava (*Crassostrea gigas*). Per quanto riguarda la mitilicoltura, la Sardegna vanta una lunga tradizione, soprattutto quella storicamente polarizzata nel Golfo di Olbia, cui si sono aggiunte altre zone lagunari lungo il perimetro costiero, dalla costa occidentale ad alcuni distretti centromeridionali della costa orientale, mentre per quanto riguarda la venericoltura, la Sardegna contribuisce in modo limitato alla produzione di vongole vereci e relativamente all'ostricoltura è presente una realtà produttiva specializzata sempre nella costa nord-orientale della Sardegna. La molluschicoltura, essendo esercitata soprattutto nelle acque di transizione, come gli ambienti lagunari e/o nella fascia strettamente costiera, è per sua stessa natura un settore produttivo molto fragile, strettamente legato alle modifiche di tali ambienti ed ai fenomeni, sia naturali (come gli eventi meteo-marini) che indotti (come gli inquinamenti di tipo microbiologico e chimico) più o meno prevedibili e/o ricorrenti. Tali ambienti rappresentano il modello più diffuso di sistemi di transizione nel Mediterraneo, il cui possibile stato d'inquinamento deve essere valutato sia in termini di stato di *salute* dell'ecosistema e sia di rischio diretto o indiretto per la salute umana. Ciò vale anche in relazione ad alcuni specifici contaminanti, come il piombo (Pb) ed altri metalli pesanti, cadmio (Cd) e mercurio (Hg), derivanti sia da inquinamento per attività antropiche che di origine naturale. I molluschi bivalvi, filtrando rilevanti quantità di acqua per estrarre il loro cibo, mostrano grandi capacità di bioaccumulo (Claisse, 1992)

Correspondence: Pierluigi Piras, Scuola di Dottorato di Ricerca in Produzione e Sicurezza degli Alimenti di Origine Animale, Dipartimento di Biologia Animale, Università degli Studi di Sassari, via Vienna 2, 07100 Sassari, Italy. Tel. +39.339.2056525 - Fax: +39.079.229458. E-mail: pirasp@tiscali.it

Key words: Lead, Heavy metal, Bioaccumulation, Shellfish, Food safety.

Conflict of interests: the authors declare no potential conflict of interests.

Acknowledgments: the Authors would like to thank Antonino Bella, whose help was fundamental in statistical analysis.

Received for publication: 20 May 2013.

Revision received: 1 August 2013.

Accepted for publication: 29 August 2013.

This work is licensed under a Creative Commons Attribution 3.0 License (by-nc 3.0).

©Copyright P. Piras et al., 2013

Licensee PAGEPress, Italy

Italian Journal of Food Safety 2013; 2:e49

doi:10.4081/ijfs.2013.e49

anche specifico, come per esempio il Pb nei mitili (Boisson *et al.*, 1998). La contaminazione può essere diretta, dall'acqua di colonna o interstiziale del sedimento, o tramite ingestione di cibo, ovvero da particolato (Griscom e Fisher, 2004), sia inerte che vivente. I metalli pesanti accumulati nella polpa dei molluschi bivalvi, mostrano concentrazioni maggiori in determinati organi, in particolare nella ghiandola digestiva o epatopancreas, che svolge un ruolo attivo nella loro assimilazione, disintossicazione e/o eliminazione. La cinetica di contaminazione/decontaminazione non dipende infatti solo dal differenziale iniziale di concentrazione, ma anche da numerosi altri fattori (Soto *et al.*, 1995; Boening, 1999; Casas e Bacher, 2006; Casas *et al.*, 2008; Conti *et al.*, 2008) come quelli chimico-specifici (legati all'elemento in traccia, al livello di contaminazione ed alle vie di contaminazione), quelli fisiologici del mollusco (legati a fattori specie-dipendenti, al tasso di crescita ed alle variazioni di massa nel tempo, soprattutto se legate allo stato di maturità sessuale ed alla fase riproduttiva) e, infine, quelli ambientali (come la temperatura e la quantità/qualità del particolato alimentare disponibile). I molluschi esposti a metalli pesanti rispondono con due tipi di meccanismi di detossificazione (Amiard *et al.*, 2006): o rendono il metallo non più bio-disponibile attraverso la formazione di sali insolubili (come ad esempio i solfuri), oppure inducono la formazione di molecole a struttura organo-metallica, le metallotioneine, in grado

di bloccare l'attività tossica del metallo (Ramsak *et al.*, 2012). Il riscontro dell'avvenuta contaminazione può basarsi quindi, oltre che sulle determinazioni dirette (Giusti e Zhang, 2002; Conti e Cecchetti, 2003), anche su analisi indirette, più sensibili ma meno specifiche, per la ricerca di metallotioneine o per la valutazione del grado di alterazioni strutturali e funzionali indotte da avvenuta esposizione (Regoli e Enzo, 1993; Nasci *et al.*, 1998; Amiard *et al.*, 2006; Ramsak *et al.*, 2012). L'approccio basato sulla quantificazione dei metalli pesanti direttamente sull'acqua è stato infatti abbandonato già diverse decine di anni fa, a favore di tecniche più appropriate di monitoraggio con specie-sentinella, come l'approccio *Mussel Watch*, oramai ampiamente utilizzati per indagare la qualità dei sistemi acquatici (Gupta e Singh, 2011). Numerosi studi svolti anche nel Mediterraneo centro-occidentale attestano l'impiego dei mitili quale organismo maggiormente indicato per studi di valutazione dello stato di contaminazione delle acque (Amiard-Triquet *et al.*, 1999; Benedicto *et al.*, 2003; Jureša e Blanuša, 2003; Andral *et al.*, 2004; Kljakovi -Gašpi *et al.*, 2007; Cardelicchio *et al.*, 2008; Stankovi e Jovi, 2012; Spada *et al.*, 2013) ed è comunque documentato l'utilizzo anche di altri bivalvi, vongole veraci comprese (Storelli *et al.*, 2001). I mitili fornirebbero però un'informazione più completa, considerando pure il loro consumo relativo, per la valutazione dell'esposizione umana a metalli pesanti (Jovi *et al.*, 2011), Pb in particolare (Regoli e Enzo, 1994; Boisson *et al.*, 1998; Cirillo *et al.*, 2010). Le norme comunitarie riguardanti la sicurezza alimentare dedicano ampio spazio al controllo dei molluschi bivalvi vivi e delle zone di produzione e stabulazione e, sotto il profilo applicativo, le autorità competenti regionali hanno emanato indirizzi specifici e regolamentato il sistema di sorveglianza sanitaria sulla filiera dei molluschi bivalvi, dalla produzione primaria fino alla commercializzazione al minuto, oltre che aver predisposto specifici piani di monitoraggio delle zone costiere classificate per la produzione e/o la stabulazione degli stessi (Regione Autonoma della Sardegna, 2007). La possibilità di coltivazione e raccolta dei molluschi bivalvi vivi a scopo commerciale è infatti soggetta ad una preventiva valutazione delle possibili fonti di inquinamento. Benché il criterio di classificazione, com'è noto, sia in definitiva di tipo microbiologico, è comunque indispensabile caratterizzare l'area anche sotto il profilo del rischio chimico. Nella normativa comunitaria (Regolamento CE n. 854, 2004; Commissione Europea, 2004) viene infatti stabilito che: *Le zone di stabulazione e produzione classificate devono essere monitorate periodicamente al fine di verificare ... la presenza di contaminanti chimici nei molluschi bivalvi vivi.* Quindi, anche se il pacchetto igiene non esplicita alcun

obbligo di testare preventivamente per i contaminanti chimici ai fini della classificazione delle zone di produzione, tuttavia vi è un chiaro obbligo di monitorare chimicamente queste aree attraverso analisi svolte non direttamente sulle matrici abiotiche (come acque e sedimenti), ma sui molluschi che svolgono in tal senso un implicito ruolo di *sentinella*. Ai fini della sicurezza alimentare, i molluschi bivalvi vivi immessi in commercio devono inoltre essere oggetto di sorveglianza sanitaria e rientrare nei tenori massimi di contaminanti definiti nella normativa comunitaria (Regolamento CE n. 1881, 2006; Commissione Europea, 2006). Scopo di questo articolo è indagare la variabilità delle concentrazioni di Pb e di altri metalli pesanti (Cd e Hg) nella parte edibile dei molluschi bivalvi e valutarla relativamente agli attuali standard normativi, considerando ciò una premessa necessaria per la stima dell'esposizione umana, ma anche rilevare eventuali *hotspot* e trend temporali (nell'arco del quinquennio, o anche andamenti stagionali ricorrenti).

Materiali e Metodi

Nel quinquennio 2008-2012 sono state determinate dall'IZS della Sardegna le concentrazioni di Pb, Cd e Hg in complessivi n. 984 campioni di molluschi bivalvi, prelevati dai Servizi Veterinari delle Aziende Sanitarie Locali della Sardegna, di cui n. 599 in fase di pre-commercializzazione (per finalità di classificazione delle zone di produzione e/o monitoraggio delle stesse) ed i restanti n. 385 in fase di commercializzazione, appartenenti alle specie di cozza o mitilo (*Mytilus galloprovincialis*) e di ostrica concava (*Crassostrea gigas*) ed ai congeneri di vongola verace (*Ruditapes* spp.), con una ripartizione territoriale in proporzione sia alle produzioni primarie locali (cioè agli impianti di molluschicoltura), sia ai consumi (relativamente cioè alla popolazione stabile residente ed a quella turistica), quindi con relativa maggiore numerosità nei poli di Olbia e Cagliari (Figura 1).

I livelli di Pb, Cd e Hg sono stati determina-

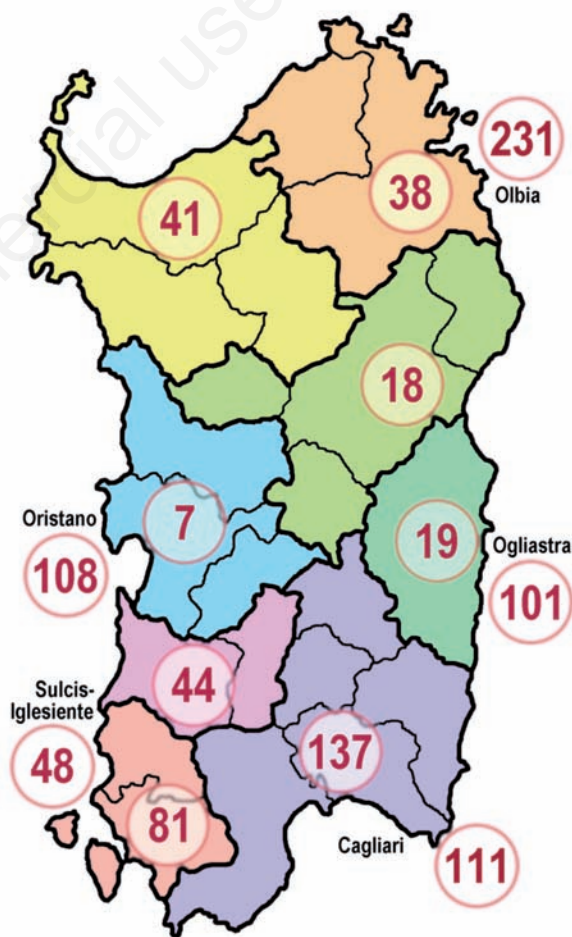


Figura 1. Mappatura dei campionamenti svolti in Sardegna nel periodo 2008-2012 per la ricerca di piombo, cadmio e mercurio nei molluschi bivalvi vivi. Esternamente alla linea di costa sono i dati relativi al biomonitoraggio delle zone di produzione e all'interno del territorio quelli relativi ai controlli svolti, per Azienda Sanitaria Locale, nelle fasi di commercializzazione.

ti in applicazione al metodo EPA 6020A per l'analisi strumentale, in associazione al metodo EPA 3052 per gli aspetti che riguardano il trattamento del campione. In conformità alla normativa comunitaria (Regolamento CE n. 1881, 2006; Regolamento n. 333, 2007; Commissione Europea, 2006, 2007) è stata selezionata solo la parte edibile dei molluschi. Una porzione (1 gr) del campione omogenato è stata sottoposta a degradazione ossidativa mediante mineralizzazione acida in forno a microonde, a temperatura e pressione controllata. Le soluzioni risultanti, opportunamente diluite, sono state analizzate mediante tecnica inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS), con strumentazione Agilent 7500CE (Agilent, Santa Clara, CA, USA), e le concentrazioni determinate per interpolazione del segnale di lettura con curve di taratura utilizzando il ^{208}Pb , il ^{111}Cd ed il ^{202}Hg , quali isotopi di quantificazione dei tre elementi, e il ^{209}Bi e ^{115}In come standard interni. Le sequenze analitiche hanno previsto, oltre all'analisi dei campioni in esame, la lettura di soluzioni di controllo relative ai bianco-reattivi ed alle matrici certificate CRM 278 e CRM DOLT-2. La procedura analitica utilizzata è stata infine validata in conformità con la norma UNI/EN/ISO 17025/2005 (ISO, 2005).

Poiché l'obiettivo dello studio era quello di confrontare i livelli medi di Pb, Cd e Hg delle diverse specie di molluschi bivalvi, nel tempo (come andamento di medio periodo osservato nel quinquennio, o quello ciclico/stagionale) e nelle diverse aree costiere, la prima fase dell'analisi dei dati ha riguardato la valutazione della variabilità delle distribuzioni dei tre metalli pesanti, con un'attenzione particolare al *pattern* del Pb. È stata perciò preventivamente verificata la normalità delle distribuzioni dei tre metalli, sia sui valori di concentrazione espressi tal quali (mg/kg di peso fresco) sia sulle log-trasformate naturali, ricorrendo in entrambi i casi al *normality test* di Shapiro-Wilk. Nel caso in cui le ipotesi della distribu-

zioni normale o log-normale non fosse rispettata si è preventivato l'utilizzo alternativo di test non parametrici, in particolare il test di Kruskal-Wallis (o *one-way ANOVA by Ranks*) o il test di Mann-Witney (o *Wilcoxon Rank-Sum test*). Per valutare infine la covarianza del Pb in coppia (*pairwise*) col Cd o col Hg, si è proceduto al calcolo dei coefficienti di correlazione (Bravais-Pearson *correlation analysis*).

Risultati

In Tabella 1 sono riassunti i livelli di contaminazione media [\pm errore standard (ES)], mediana e *range* interquartile (iqr) di Pb, Cd e Hg riscontrati nei campioni analizzati. Nel complesso, i tenori massimi stabiliti dalla normativa comunitaria, pari a 1,5 mg/kg di peso fresco per il Pb e, rispettivamente, a 1,0 e 0,50 nel caso del Cd e del Hg, sono stati superati in un solo campione, relativamente ai limiti stabiliti per il Pb, con altri tre campioni che mostravano concentrazioni superiori ai 2/3 del limite, tutti prelevati in fase di classificazione delle zone costiere. Relativamente al Cd, tutti i campioni erano compresi in un intervallo di distribuzione tra il limite di rilevabilità e 1/4 del livello massimo ammissibile, mentre, relativamente al Hg, i valori estremi erano abbondantemente sotto il 5% del tenore massimo stabilito in norma.

Le concentrazioni dei tre elementi nelle diverse specie di molluschi bivalvi presentano una distribuzione fortemente asimmetrica a destra. Il test di normalità di Shapiro-Wilk è risultato essere significativo, a conferma che tali variabili nella parte edibile dei molluschi bivalvi non sono normalmente distribuite ($P < 0,0001$). Anche a seguito del tentativo di *normalizzare* tali distribuzioni attraverso la trasformazione logaritmica, pur osservando una buona simmetria nelle distribuzioni, il test di Shapiro-Wilk sulle log-trasformate naturali è risultato essere ancora significativo

($P < 0,0001$), concludendo che l'ipotesi alla base dei test parametrici non sono rispettate. Si è passati quindi all'utilizzo del test non parametrico di Kruskal-Wallis, che è risultato significativo ($P = 0,0001$) sia per il Pb, che per il Cd ed il Hg, potendo concludere che la differenza tra i livelli medi di ciascuno dei tre metalli pesanti nelle diverse specie di molluschi campionati è statisticamente significativa, con $\text{Pb} > \text{Cd} > \text{Hg}$, in accordo con quanto la recente bibliografia riferisce per altri contesti comparabili del Mediterraneo centro-occidentale (Stankovi e Jovi, 2012; Spada *et al.*, 2013).

Relativamente ai coefficienti di correlazione tra coppie di metalli pesanti, si osservano moderati o deboli livelli di correlazione statisticamente significativi ($P < 0,0001$), con $\text{Pb}/\text{Cd} = 0,305$ e $\text{Pb}/\text{Hg} = 0,207$.

Anche per confrontare i livelli medi di metalli pesanti tra i cinque anni è stato utilizzato il test non parametrico di Kruskal-Wallis, che è risultato significativo ($P = 0,0001$), concludendo che anche le differenze tra i livelli medi di ciascuno dei metalli pesanti nei cinque anni è statisticamente significativa. Ciò è spiegabile in ragione delle ampie oscillazioni, sia annuali (con valori significativamente più alti nel 2009) che ciclico-stagionali, benché si osservi un trend generale di moderata diminuzione nel quinquennio, con una linea di tendenza (data dalla retta di regressione, posto $y = \text{mg/kg}$ e $x = \text{tempo/mesi}$), di $y = -0,0006x + 0,2407$ per il Pb, di $y = -0,0005x + 0,1182$ per il Cd e di $y = -0,0002x + 0,0152$ per il Hg.

Le concentrazioni di contaminanti chimici nei molluschi bivalvi mostrano soprattutto oscillazioni a seconda del periodo dell'anno e tale fenomeno è noto da tempo (Claisse, 1992). Il *pattern* per i composti inorganici, come i metalli pesanti, è fondamentalmente riferibile a quello del *biological dilution*, quando cioè le quantità unitarie (per singolo mollusco) di contaminanti rimangono le stesse ma, in particolare nel periodo nel quale ciascuna specie

Tabella 1. Media \pm errore standard, mediana e range interquartile delle concentrazioni di piombo, cadmio e mercurio (mg/kg di peso fresco) in molluschi bivalvi campionati in Sardegna, periodo 2008-2012. Confronto tra specie.

Specie	N	Metallo	Media \pm ES	Mediana	Iqr
<i>Mytilus galloprovincialis</i>	864	Pb	0,206 \pm 0,005	0,165	0,133
		Cd	0,099 \pm 0,003	0,083	0,055
		Hg	0,009 \pm 0,001	0,008	0,009
<i>Ruditapes</i> spp.	91	Pb	0,274 \pm 0,024	0,188	0,260
		Cd	0,034 \pm 0,002	0,028	0,033
		Hg	0,006 \pm 0,000	0,005	0,007
<i>Crassostrea gigas</i>	29	Pb	0,108 \pm 0,006	0,103	0,029
		Cd	0,148 \pm 0,014	0,120	0,089
		Hg	0,017 \pm 0,005	0,011	0,012
Totale	984	Pb	0,209 \pm 0,005	0,163	0,139
		Cd	0,095 \pm 0,002	0,081	0,058
		Hg	0,009 \pm 0,000	0,008	0,010

ES, errore standard; iqr, range interquartile; Pb, piombo; Cd, cadmio; Hg, mercurio.

raggiunge la maturità sessuale, la polpa del bivalve aumenta la massa dell'organismo, determinando una relativa *caduta* delle concentrazioni di metalli pesanti. Le concentrazioni più elevate si registrano quindi in inverno/primavera e le più basse in estate/autunno (Figura 2). Per verificare la significatività delle differenze stagionali sono stati messi a confronto i livelli medi rilevati nei due semestri degli anni in osservazione, adoperando il test non parametrico di Mann-Whitney. Relativamente al Pb, il test risulta statisticamente significativo per i campioni di mitili ($P < 0,0001$) e per quelli delle vongole veraci ($P = 0,0049$). Per il Cd, il test risulta statisticamente significativo solo per i campioni di vongole veraci ($P = 0,0055$), mentre per il Hg, il test risulta statisticamente significativo solo per i campioni di mitili ($P < 0,0001$). Per le ostriche, probabilmente anche in relazione al bassa

numerosità campionaria, il test risulta non significativo per tutti e tre i metalli pesanti.

Nella Tabella 2 sono infine riportati i confronti tra le cinque aree costiere della Sardegna biomonitorate, utilizzando quindi i soli campionamenti georeferenziati ($N = 599$). Il test di Kruskal-Wallis risulta significativo per tutti e tre i metalli pesanti, con maggior evidenza ($P < 0,0001$) per il Pb ed il Cd e relativamente minore ma sempre robusta ($P = 0,0036$) per il Hg, a dimostrazione che i livelli medi di Pb, Cd e Hg nelle aree sono statisticamente differenti.

Discussione

Anche dai dati raccolti in questo studio si può rilevare come vi siano forti evidenze per

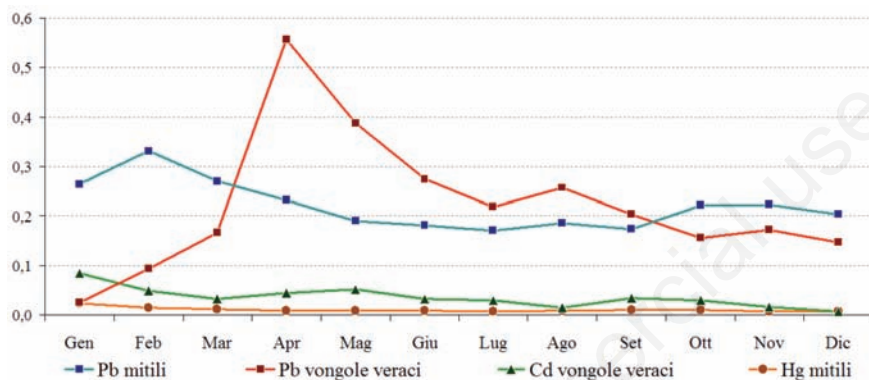


Figura 2. Dinamica temporale, per mese, dei valori medi (mg/kg di peso fresco) di piombo, cadmio e mercurio in molluschi bivalvi campionati in Sardegna. Rappresentazione dei casi con differenze semestrali statisticamente significative.

raccomandare di non ridurre i programmi di monitoraggio chimico e/o controllo ufficiale esistenti per i molluschi bivalvi commestibili. La ragione principale per il proseguimento di tali attività è che esiste una grande variabilità nell'ordine di grandezza alla quale i diversi metalli pesanti bioaccumulano nei molluschi: generalmente più alta nel caso del Pb, intermedia per il Cd e relativamente più bassa nel caso del Hg. Inoltre, sia i parametri ambientali che le specie di bivalvi influenzano il grado di bioconcentrazione di tali contaminanti, cui si aggiunge il fatto che i carichi di contaminanti siano influenzati anche dalla stagione nella quale i molluschi sono raccolti. Quindi, benché sia basilare riaffermare, in accordo con il diritto alimentare comunitario, che per garantire i consumatori di molluschi bivalvi dal rischio, anche chimico derivante da metalli pesanti, la loro produzione e commercializzazione debba essere innanzitutto gestita dagli operatori del settore alimentare secondo le procedure di sicurezza ricadenti nei Regolamenti del *pacchetto igiene*, tuttavia, sulla qualità e sicurezza del prodotto, è del tutto evidente come debba mantenere un ruolo fondamentale sia il monitoraggio della produzione primaria che il controllo della filiera commerciale da parte dell'autorità pubblica.

Anche se i risultati dello studio mostrano alcune aree monitorate con contaminazioni a livelli di attenzione, in particolare per il Pb, tuttavia, poiché i campionamenti svolti sono rappresentativi di tutta la produzione di molluschi bivalvi in Sardegna ed i limiti ammissibili di contaminazione non vengono, praticamente, mai superati, si può concludere che, nella generalità, tali prodotti vanno considerati sicuri.

Tabella 2. Media±errore standard, mediana e range interquartile delle concentrazioni di piombo, cadmio e mercurio (mg/kg di peso fresco) in molluschi bivalvi campionati in Sardegna, periodo 2008-2012. Confronto tra zone di produzione.

Zone di produzione	N	Metallo	Media±ES	Mediana	Iqr
Olbia	231	Pb	0,179±0,008	0,148	0,095
		Cd	0,089±0,003	0,076	0,055
		Hg	0,011±0,001	0,009	0,010
Ogliastra	101	Pb	0,131±0,008	0,106	0,092
		Cd	0,102±0,005	0,093	0,048
		Hg	0,008±0,001	0,008	0,009
Cagliari	111	Pb	0,233±0,011	0,215	0,179
		Cd	0,091±0,006	0,067	0,091
		Hg	0,012±0,001	0,010	0,009
Sulcis-Iglesiente	48	Pb	0,477±0,048	0,394	0,422
		Cd	0,169±0,028	0,085	0,187
		Hg	0,017±0,008	0,007	0,009
Oristano	108	Pb	0,247±0,016	0,206	0,139
		Cd	0,070±0,005	0,064	0,074
		Hg	0,008±0,001	0,006	0,008
Totale	599	Pb	0,217±0,007	0,166	0,149
		Cd	0,095±0,003	0,076	0,068
		Hg	0,011±0,001	0,009	0,009

ES, errore standard; iqr, range interquartile; Pb, piombo; Cd, cadmio; Hg, mercurio.

Vanno comunque sottolineate alcune cautele. Una marcata stagionalità è stata osservata anche in questo studio, nella concentrazione del Pb in particolare, dovuta all'influenza dello sviluppo gonadico sul peso relativo della ghiandola digestiva (Regoli e Enzo, 1993); di conseguenza, questo fatto può generare una stima imprevedibile della effettiva biodisponibilità del metallo (Soto *et al.*, 1995). Considerare l'importanza dei processi fisiologici, come quello riproduttivo, quali determinanti stagionali delle concentrazioni di metalli nei molluschi bivalvi (Cardellicchio *et al.*, 2008) possono infatti essere utili anche per affinare gli strumenti di monitoraggio per la valutazione del rischio e, più in generale, per le strategie di gestione ambientale (Casas *et al.*, 2008), in particolare in aree *hotspots* che presentano naturalmente più alti livelli di metalli pesanti, come quelle che hanno sul territorio importanti attività minerarie piombo-zincifere dismesse (Benedicto *et al.*, 2008) di cui ne è un esempio in Sardegna i siti di interesse nazionale del Sulcis-Iglesiente-Guspinese.

Conclusioni

Si può in sintesi concludere che l'interpretazione dei risultati analitici richiede sempre la considerazione delle differenze tra le varie specie a bioaccumulo e che dai piani di monitoraggio delle zone classificate per la molluschicoltura e da quelli del controllo ufficiale per la sicurezza alimentare si possono trarre utili informazioni di trend temporali e sito-specifici.

Bibliografia

- Amiard JC, Amiard-Triquet C, Barka S, Pellerin J, Rainbow PS, 2006. Metallothioneins in aquatic invertebrates: their role in metal detoxification and their use as biomarkers. *Aquat Toxicol* 76:160-202.
- Amiard-Triquet C, Burgeot T, Claisse D, 1999. [La surveillance de la qualité du milieu marin: l'expérience du Réseau National d'Observation et le développement de biomarqueurs]. [Articolo in francese]. *Océanis S D* 25:651-84. Disponibile al sito: <http://archimer.ifremer.fr/doc/00017/12848/9793.pdf>
- Andral B, Stanisiere JY, Sauzade D, Damier E, Thebault H, Galgani F, Boissery P, 2004. Monitoring chemical contamination levels in the Mediterranean based on the use of mussel caging. *Mar Pollut Bull* 49:704-12.
- Benedicto J, Martínez-Gómez C, Guerrero J, Jornet A, Rodríguez C, 2008. [Contaminación por metales en la bahía de Portmán (Murcia, SE España) 15 años después del cese de las actividades mineras]. [Articolo in spagnolo]. *Cienc Mar* 34:389-98.
- Benedicto J, Rodríguez C, Martínez-Gómez C, Guerrero J, Jornet A, 2003. [Distribución espacial y tendencias temporales de los niveles de metales traza en el litoral de Andalucía utilizando mejillón *Mytilus galloprovincialis* como organismo indicador: 1991-2003]. [Articolo in spagnolo]. *Bol Inst Esp Oceanogr* 19:31-9. Disponibile al sito: http://www.revistas.ieo.es/index.php/boletin_ieo/article/viewFile/117/110
- Boening DW, 1999. An evaluation of bivalves as biomonitors of heavy metals pollution in marine waters. *Environ Monit Assess* 55:459-70.
- Boisson F, Cotret O, Fowler SW, 1998. Bioaccumulation and retention of lead in the mussel *Mytilus galloprovincialis* following uptake from seawater. *Sci Total Environ* 222:55-61.
- Cardellicchio N, Buccolieri A, Di Leo A, Giandomenico S, Spada L, 2008. Levels of metals in reared mussels from Taranto Gulf (Ionian Sea, Southern Italy). *Food Chem* 107:890-6.
- Casas S, Bacher C, 2006. Modelling trace metal (Hg and Pb) bioaccumulation in the Mediterranean mussel, *Mytilus galloprovincialis*, applied to environmental monitoring. *J Sea Res* 56:168-81.
- Casas S, González JL, Andral B, Cossa D, 2008. Relation between metal concentration in water and metal content of marine mussels (*Mytilus galloprovincialis*): impact of physiology. *Environ Toxicol Chem* 27:1543-52.
- Cirillo T, Fasano E, Viscardi V, Arnese A, Amodio-Cocchieri R, 2010. Survey of lead, cadmium, mercury and arsenic in seafood purchased in Campania, Italy. *Food Addit Contam B* 3:30-8.
- Claisse D, 1992. [Accumulation des métaux lourds et polluants organiques par les coquillages]. In Lesne J, eds. [Coquillages et santé publique. Du risque à la prévention]. [Volume in francese]. ENSP ed., Nancy, pp 99-111.
- Commissione Europea, 2004. Regolamento del Parlamento e del Consiglio del 29 aprile 2004 che stabilisce norme specifiche per l'organizzazione di controlli ufficiali sui prodotti di origine animale destinati al consumo umano, 854/2004/CE. In: *Gazzetta Ufficiale*, L 139, 30/04/2004.
- Commissione Europea, 2006. Regolamento della Commissione del 19 dicembre 2006 che definisce i tenori massimi di alcuni contaminanti nei prodotti alimentari, 1881/2006/CE. In: *Gazzetta Ufficiale*, L 364, 20/12/2006.
- Commissione Europea, 2007. Regolamento della Commissione del 28 marzo 2007 relativo ai metodi di campionamento e di analisi per il controllo ufficiale dei tenori di piombo, cadmio, mercurio (...) nei prodotti alimentari, 333/2007/CE. In: *Gazzetta Ufficiale*, L 88, 29/03/2007.
- Conti ME, Cecchetti GF, 2003. A biomonitoring study: trace metals in algae and molluscs from Tyrrhenian coastal areas. *Environ Res* 93:99-112
- Conti ME, Iacobucci M, Cecchetti G, Alimonti A, 2008. Influence of weight on the content of trace metals in tissues of *Mytilus galloprovincialis*: a forecast model. *Environ Monit Assess* 141:27-34.
- Regione Autonoma della Sardegna, 2007. Direzione generale dell'ambiente, Servizio pesca, acquacoltura e stagni, n. 1093, 2007. Zone di produzione e di stabulazione di molluschi bivalvi vivi ubicate in acque di mare e di transizione della Sardegna. BURAS n. 28/2007:56-93. Disponibile al sito: http://www.regione.sardegna.it/documenti/1_5_20070824125444.pdf
- Giusti L, Zhang H, 2002. Heavy metals and arsenic in sediments, mussels and marine water from Murano (Venice, Italy). *Environ Geochem Hlth* 24:47-65.
- Griscom SB, Fisher NS, 2004. Bioavailability of sediment-bound metals to marine bivalve molluscs: an overview. *Estuaries* 27:826-38.
- Gupta SK, Singh J, 2011. Evaluation of mollusc as sensitive indicator of heavy metal pollution in aquatic system: a review. *J Int Omics Appl Biotechnol* 2:49-57. Disponibile al sito: <http://www.iioab.org/SPI-1%28EBT%29/Gupta%20et%20al-IIOABJ-2%20%281%29-%28SP1%29-49-57p.pdf>
- ISMEA, 2007. Il settore ittico in Italia e nel mondo: le tendenze recenti. Ismea, Roma. Disponibile al sito: <http://www.ismea.it/flex/cm/pages/ServeAttachment.php/LIT/D/9%252Fd%252F%252FD.7ea15Iee461300d27dfe/P/BLOB%3AID%3D2756>
- ISO, 2005. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories. ISO Norm 17025:2005. International Standardization Organization ed., Geneva, Switzerland.
- Jovi M, Onjia A, Stankovi S, 2011. Toxic metal health risk by mussel consumption. *Environ Chem Lett* 10:69-77.
- Jureša D, Blanuša M, 2003. Mercury, arsenic, lead and cadmium in fish and shellfish from the Adriatic Sea. *Food Addit Contam* 20:241-6.
- Kljakovi -Gašpi Z, Ujevi I, Zvonari T, Bari A, 2007. Biomonitoring of trace metals (Cu, Cd, Cr, Hg, Pb, Zn) in Mali Ston Bay (eastern Adriatic) using the Mediterranean blue mussel (1998-2005). *Acta Adriat* 48:73-88.

- Nasci C, Da Ros L, Campesan G, Fossato VU, 1998. Assessment of the impact of chemical pollutants on mussel, *Mytilus galloprovincialis*, from the Venice Lagoon, Italy. *Mar Environ Res* 46:279-82.
- Ramšak A, Štarnar J, Horvat M, 2012. Evaluation of metallothioneins in blue mussels (*Mytilus galloprovincialis*) as a biomarker of mercury and cadmium exposure in the slovenian waters (Gulf of Trieste): a long-term field study. *Acta Adriat* 53:71-86.
- Regoli F, Enzo O, 1993. *Mytilus galloprovincialis* as a bioindicator of lead pollution: biological variables and cellular responses. *Sci Total Environ* 134:1283-92.
- Regoli F, Enzo O, 1994. Bioavailability of biologically detoxified lead: risks arising from consumption of polluted mussels. *Environ Health Persp* 102:335-8.
- Soto M, Kortabitarte M, Marigomez I, 1995. Bioavailable heavy metals in estuarine waters as assessed by metal shell-weight indices in sentinel mussels *Mytilus galloprovincialis*. *Mar Ecol-Prog Ser* 125:127-36.
- Spada L, Annicchiarico C, Cardelicchio N, Giandomenico S, Di Leo A, 2013. Heavy metals monitoring in the mussel *Mytilus galloprovincialis* from the Apulian coast (Southern Italy). *Medit Mar Sci* 14:99-108.
- Stankovi S, Jovi M, 2012. Health risks of heavy metals in the mediterranean mussels as seafood. *Environ Chem Lett* 10:119-30.
- Storelli MM, Marcotrigiano GO, 2001. Consumption of bivalve molluscs in Italy: estimated intake of cadmium and lead. *Food Addit Contam* 18:303-7.

Non-commercial use only