

S. MANZO

Dipartimento Sostenibilità dei Sistemi Produttivi e Territoriali
Divisione Protezione e Valorizzazione del Territorio
e del Capitale Naturale
Laboratorio di Biodiversità e Servizi Ecosistemici
Centro Ricerche Portici, Napoli

G. ANSANELLI

Dipartimento Sostenibilità dei Sistemi Produttivi e Territoriali
Divisione Uso Efficiente delle Risorse e Chiusura dei Cicli
Laboratorio Valorizzazione delle risorse
nei sistemi produttivi e territoriali
Centro Ricerche Portici, Napoli

P. MASSANISSO

Dipartimento Sostenibilità dei Sistemi Produttivi e Territoriali
Supporto Tecnico Strategico
Centra Ricerche Casaccia, Roma

L. PARRELLA, S. SCHIAVO

Università degli Studi di Napoli Federico II - Criccaq

**G. DI LANDA, J. RIMAURO, A. SALLUZZO
B. LANZA, C. MINOPOLI**

Dipartimento Sostenibilità dei Sistemi Produttivi e Territoriali
Divisione Protezione e Valorizzazione del Territorio
e del Capitale Naturale
Laboratorio Biogeochimica ambientale
Centro Ricerche Portici, Napoli

PROGETTO CARISMA

Valutazione del rischio ambientale derivante
dall'impiego di biocidi antivegetativi nel Sud
del Mar Adriatico

RT/2017/14/ENEA



AGENZIA NAZIONALE PER LE NUOVE TECNOLOGIE,
L'ENERGIA E LO SVILUPPO ECONOMICO SOSTENIBILE

S. MANZO

Dipartimento Sostenibilità dei Sistemi Produttivi e Territoriali
Divisione Protezione e Valorizzazione del Territorio
e del Capitale Naturale
Laboratorio di Biodiversità e Servizi Ecosistemici
Centro Ricerche Portici, Napoli

G. ANSANELLI

Dipartimento Sostenibilità dei Sistemi Produttivi e Territoriali
Divisione Uso Efficiente delle Risorse e Chiusura dei Cicli
Laboratorio Valorizzazione delle risorse
nei sistemi produttivi e territoriali
Centro Ricerche Portici, Napoli

P. MASSANISSO

Dipartimento Sostenibilità dei Sistemi Produttivi e Territoriali
Supporto Tecnico Strategico
Centra Ricerche Casaccia, Roma

L. PARRELLA, S. SCHIAVO

Università degli Studi di Napoli Federico II - Cricaq

**G. DI LANDA, J. RIMAURO, A. SALLUZZO
B. LANZA, C. MINOPOLI**

Dipartimento Sostenibilità dei Sistemi Produttivi e Territoriali
Divisione Protezione e Valorizzazione del Territorio
e del Capitale Naturale
Laboratorio Biogeochimica ambientale
Centro Ricerche Portici, Napoli

Progetto CARISMA

Valutazione del rischio ambientale derivante dall'impiego di biocidi antivegetativi nel Sud del Mar Adriatico

RT/2017/14/ENEA



AGENZIA NAZIONALE PER LE NUOVE TECNOLOGIE,
L'ENERGIA E LO SVILUPPO ECONOMICO SOSTENIBILE

A Paolo,
motore del gruppo di lavoro,
con affetto e gratitudine.

I rapporti tecnici sono scaricabili in formato pdf dal sito web ENEA alla pagina
<http://www.enea.it/it/produzione-scientifica/rapporti-tecnici>

I contenuti tecnico-scientifici dei rapporti tecnici dell'ENEA rispecchiano
l'opinione degli autori e non necessariamente quella dell'Agenzia

The technical and scientific contents of these reports express the opinion
of the authors but not necessarily the opinion of ENEA.

PROGETTO CARISMA

Valutazione del rischio ambientale derivante dall'impiego di biocidi antivegetativi nel Sud del Mar Adriatico

S. Manzo, G. Ansanelli, L. Parrella, B. Lanza, C. Minopoli, G. Di Landa, J. Rimauro
A. Salluzzo, S. Schiavo, P. Massanisso

Riassunto

Nel triennio 2012-2014, nell'ambito del progetto Carisma (Caratterizzazione (chimico, fisica, ecotossicologica) ed Analisi Rischio ecologico di biocidi antivegetativi nel Sud del Mar Adriatico), è stata realizzata una campagna di monitoraggio multidisciplinare lungo le coste italiane (Puglia) ed albanesi. Lo scopo del progetto era di misurare il livello di contaminazione ambientale da parte di alcuni biocidi antivegetativi (TBT, Irgarol 1051 e Diuron) e di valutarne il rischio per gli organismi acquatici non-target. Le analisi chimiche sono state integrate con saggi ecotossicologici per valutare gli effetti esercitati dall'insieme dei contaminanti presenti, inclusi quelli non analizzati.

Le concentrazioni rilevate sono state confrontate con gli standard di qualità ambientale (SQA) fissati dalle Direttive 2008/105/EC e 2013/39/EC, per ottenere informazioni sui potenziali pericoli a cui sono esposti gli organismi acquatici. Inoltre, è stata realizzata un'Analisi di Rischio Ecologico (ERA) per una valutazione sito-specifica dei potenziali effetti negativi derivanti dai biocidi antivegetativi.

La minaccia maggiore è costituita dal TBT, che supera quasi sempre il limite stabilito per la massima concentrazione ammissibile (0,62 ng Sn/L), in entrambe le aree investigate, con picchi fino a 37 ng Sn/L.

Livelli di Irgarol al di sopra della concentrazione media annuale (SQA-AA, 2,5 ng/L) si misurano spesso in Puglia, mentre, in Albania, ciò accade molto meno frequentemente. Inoltre, in Puglia, le concentrazioni di Irgarol superano, talvolta, anche la concentrazione massima ammissibile (SQA-MAC, 16 ng/L). Per il Diuron si riscontra una situazione meno critica in quanto le quantità misurate sono sempre inferiori alla concentrazione massima ammissibile (SQA-MAC: 1800 ng/L) e solo occasionalmente superano il limite SQA-AA (200 ng/L).

L'ERA indica un rischio basso per gli organismi marini esposti all'Irgarol ed al Diuron anche se tale rischio risulta non trascurabile in alcune località più inquinate della Puglia. D'altra parte, per il TBT si ottiene un'elevata probabilità (>70%) che si verifichino effetti avversi per la popolazione acquatica, in quasi tutte le località investigate.

Infine, i saggi ecotossicologici mostrano un rischio da medio ad alto, per entrambe le aree esaminate.

Parole chiave: Pitture antivegetative, TBT, Irgarol 1051, Diuron, metalli pesanti, Puglia (Italia), Albania, Analisi di Rischio Ecologico, saggi ecotossicologici

Abstract

In the triennium 2012-2014, ports and marinas, as well as a marine protected area (MPA), along the coasts of Albania and Apulia (Italy) were monitored, in the framework of the CARISMA project (characterization and ecological risk analysis of antifouling biocides in the Southern Adriatic Sea), to determine the extent of contamination from the antifouling (AF) biocides TBT, Irgarol 1051 and Diuron in the environment and to assess the corresponding risk for non-target aquatic organisms. Chemical analyses were complemented with ecotoxicological assays in order to evaluate the toxic effects exerted by all the contaminants, even those not analyzed.

With the aim of getting information on possible hazards to aquatic organisms, the measured environmental concentrations have been compared with regulatory Environmental Quality Standards (EQS) established by the Directives 2008/105/EC and 2013/39/EC.

In addition, to obtain a site-specific assessment of the potential adverse effects posed by AF biocides based on equally specific guide values, an Ecological Risk Assessment (ERA) has been carried out.

The greatest threat was represented by the TBT that exceeded almost always the EQS-MAC (0,62 ng Sn/L) in both investigated areas, with peaks up to 37 ng Sn/L.

Irgarol 1051 amounts above the Annual Average Concentration (EQS-AA, 2.5 ng/L) have been often detected in Apulia and, much less frequently, in Albania. Sometime, in Apulia the Maximum Allowable Concentrations (EQS-MAC, 16 ng/L) has been also exceeded.

A less critical situation was observed for Diuron whose levels were always below the MAC-EQS (1800 ng/L) and only occasionally, in Apulia, they exceeded the AA-EQS (200 ng/L).

ERA showed that the risk posed by Irgarol and Diuron to sensitive marine organisms was low, even if it was not negligible in some hotspots of Apulia. On the other hand, a high probability (> 70%) of adverse effects has been found for TBT, in almost all the sampled locations.

Finally, the ecotoxicological analyses showed medium-high risk in both the investigated areas.

Keywords: Antifouling paints, TBT, Irgarol 1051, Diuron, heavy metals, Apulia (Italy), Albania Ecological Risk Assessment, ecotoxicological assays.

INDICE

1. INTRODUZIONE	7
1.1 IL PROBLEMA DEL FOULING MARINO	7
1.2 TBT	10
1.3 RAME E ZINCO	11
1.4 IRGAROL 1051	11
1.5 DIURON	12
1.6 IL PROGETTO CARISMA	13
1.7 SITI DI CAMPIONAMENTO	14
2. MATERIALI E METODI	16
2.1 CAMPIONAMENTO DI ACQUA, SEDIMENTO E BIOTA	16
2.2 METODI ANALITICI PER LA DETERMINAZIONE DEI BIOCIDI IRGAROL E DIURON	18
2.3 METODI ANALITICI PER LA DETERMINAZIONE DEL TBT	19
2.4 ANALISI DEI METALLI	19
2.5 SAGGI ECOTOSSICOLOGICI	20
2.6 ANALISI DI RISCHIO ECOLOGICO (ERA)	21
3. RISULTATI E DISCUSSIONE	22
3.1 METALLI	22
3.1.1 Acque	22
3.1.2 Sedimenti	23
3.2 TBT	26
3.2.1 Acque	26
3.2.2 Sedimenti	27
3.2.3 Indice di degradazione (ID)	28
3.2.4 Mitili	29
3.3 DIURON	30
3.3.1 Acque	30
3.3.2 Sedimenti	31
3.4 IRGAROL 1051	32
3.4.1 Acque	32
3.4.2 Sedimenti	33
3.5 IL RISCHIO ECOTOSSICOLOGICO	34
3.6 STIMA PROBABILISTICA DEL RISCHIO ECOLOGICO	36
4. CONCLUSIONI	37
5. BIBLIOGRAFIA	40
APPENDICE A – Foto dei siti campionati	46

1. INTRODUZIONE

1.1 Il problema del fouling marino

Sulle strutture immerse in acqua (Fig. 1), quali gli scafi delle imbarcazioni, le boe, le tubazioni e le gabbie per l'acquacoltura, si verifica la crescita indesiderata di diverse specie di organismi marini (microorganismi, piante e animali) che vanno a costituire il cosiddetto biofouling, o semplicemente, fouling, ossia incrostazioni di natura biologica.

Il processo del fouling, inizia dal momento dell'esposizione in acqua di mare con la formazione di una complessa comunità di batteri, diatomee, protozoi e spore di alghe (soft fouling), ai quali, in un secondo momento, si aggiungono altri organismi sessili, quali crostacei, alghe, idrozoi, anellidi, molluschi o spugne (hard fouling) (Omae, 2003).



Figura 1 - Esempio di fouling sullo scafo di una imbarcazione

Il biofouling rappresenta un serio problema per l'industria nautica. Infatti, la sua presenza sugli scafi aumenta il peso delle imbarcazioni e l'attrito con l'acqua e, pertanto, per mantenere la stessa velocità di navigazione, si può arrivare a consumare fino al 40% in più di carburante (Champ, 2000, Fernández-Alba et al., 2002). Questo maggiore consumo, a sua volta, determina un aumento delle emissioni inquinanti in mare ed in atmosfera (Rascio, 2000; WHOI, 1952), oltre che una spesa più elevata (Abbott et al., 2000). Al danno economico da biofouling contribuiscono anche i costi per la sua rimozione ed il mancato guadagno, per gli armatori, dovuto ai periodi di fermo per le operazioni di pulizia dello scafo.

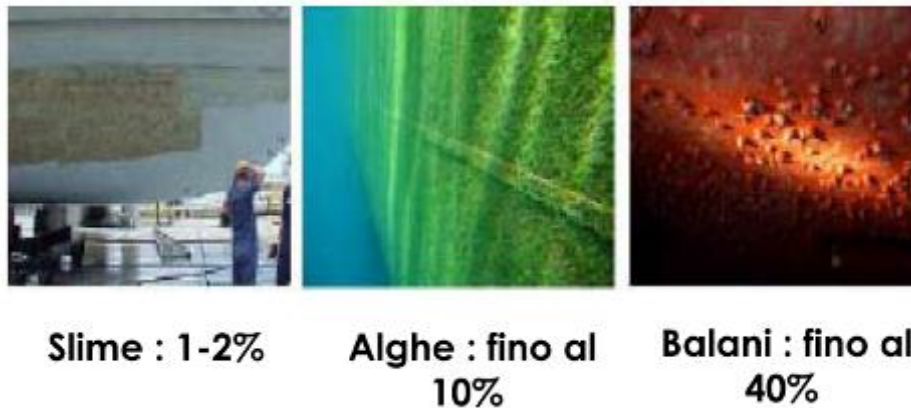


Figura 2 – Incremento percentuale dell’attrito in presenza di diversi organismi incrostanti

Inoltre, il fouling è co-responsabile del trasferimento delle specie in ambienti diversi da quello di origine. Tali specie, dette “aliene” o alloctone, rappresentano una minaccia per la biodiversità, in quanto mettono a repentaglio l’esistenza delle specie autoctone, sottraendo cibo e/o portando nuove malattie (Bartley e Minchin, 1996), con serie conseguenze socio-economiche. Per esempio, l’arrivo, principalmente tramite l’acqua di zavorra, del granchio europeo *Carcinus maenas* sulla costa occidentale del nord America ha arrecato danni alla pesca del granchio locale (Dumbauld e Kauffman, 1998) e la comparsa, presumibilmente legata al commercio delle ostriche, della patella *Crepidula fornicata*, proveniente dall’Oceano Atlantico, ha costituito una calamità per gli allevamenti di ostriche in Europa (Blanchard, 1995).

Questi problemi, hanno da secoli spinto all’uso di sistemi capaci di contrastare la formazione del biofouling, detti pertanto antivegetativi (o antifouling, AF), tra i quali un ruolo primario è ricoperto dalle pitture.

La maggior parte delle pitture AF contengono anche metalli pesanti: attualmente i più utilizzati sono rame e zinco, mentre in passato si è ampiamente utilizzato lo stagno. Nel 2001, l’Organizzazione Marittima Internazionale (IMO), ha adottato la Convenzione AFS (Convention on the Control of Harmful Anti-fouling System on Ships) con la quale ha proibito l’applicazione dei composti organici AF contenenti stagno (es. tributilstagno – TBT) su tutte le navi degli Stati membri a partire dal 2003. Inoltre, l’IMO, sempre sulla base della stessa Convenzione, ha vietato l’ingresso, nei porti degli Stati membri, alle navi che impiegano pitture antivegetative a base composti organostannici, a partire dal 2008.

In conseguenza delle limitazioni imposte sull’uso degli organostannici, negli ultimi 25 anni i produttori di pitture hanno compiuto notevoli sforzi nello sviluppo di nuovi prodotti privi di stagno (tin-free). Attualmente, la maggior parte delle pitture antivegetative contiene un metallo (solitamente rame) come principio attivo ed un biocida “booster” (ossia “rinforzante”) per estendere l’azione antifouling anche agli

organismi rame -resistenti, come alghe e diatomee (Brady Jr., 2000). Fra i biocidi booster impiegati si annoverano l'Irgarol 1051, il Diuron, il Sea Nine, il Dichlofluanid, il Chlorothalonil e lo Zinco piritione.

L'ampio impiego di tali sostanze ha portato, negli anni, ad un significativo aumento delle loro concentrazioni nell'ambiente (Kostantinou e Albanis, 2004; Dafforn et al., 2011).

La diffusa presenza di queste sostanze tossiche la cui pericolosità è stata largamente evidenziata, nei confronti di organismi "*non target*", ne richiede un continuo controllo al fine di evitare rischi per l'ambiente marino, eventualmente allertando le autorità preposte affinché prendano adeguati provvedimenti.

1.2 TBT

A partire dagli anni '60, i composti organostannici, fino a quel momento impiegati come fungicidi in agricoltura, fanno la loro comparsa nelle pitture antivegetative (AF) (Lewis, 1998). I più utilizzati erano i composti tributilici (TBT) e trifenilici (TPT) con formula R_3SnX (in cui il gruppo R è un butile oppure un fenile, mentre X rappresenta un sostituito inorganico) ed in particolare il TBTO ($(n-Bu_3Sn)_2O$). Questi composti ebbero una rapida diffusione in quanto esibivano un'efficacia da cinque a dieci volte maggiore rispetto ad altri agenti antivegetativi quali, ad esempio, l'ossido di rame ed inoltre venivano ritenuti facilmente degradabili. In effetti, è stato osservato che la luce, e agenti biologici quali funghi (*Caniophora cutanea*, *Trematis versicolor* e *Chaetomium globus*) e batteri (*Pseudomonas aeruginosa* e *Alcaligenes fecalis*) (Ferri et al., 1988) sono in grado di degradare, per idrolisi, tali composti in un lasso di tempo stimato fra pochi giorni ed alcuni mesi (Omae, 2003; Antizar-Ladislao, 2008). Tuttavia, questi composti possono continuare ad esercitare un'azione tossica durante tale lasso di tempo. E, infatti, agli inizi degli anni '80, in Francia, negli allevamenti di ostriche situati in aree con elevato traffico marittimo e ridotto scambio d'acqua con il mare aperto, furono registrati i primi effetti negativi associati al TBT. In particolare, fu osservato (Gibbs and Bryan, 1986) che il TBT induceva la superimposizione di caratteristiche maschili in femmine di gasteropodi (imposex), con gravi ripercussioni sulla riproduttività di tali specie. Inoltre, furono registrate anomalie nello sviluppo larvale e malformazioni dei gusci dei gasteropodi (Rilov et al, 2001). Queste scoperte hanno indotto la Francia, per prima, a proibire l'uso dei composti organostannici sulle imbarcazioni aventi lunghezza inferiore a 25 mt, che erano ritenute le principali fonti di diffusione (Alzieu et al., 1986).

Successivamente, anche altri paesi, quali il Regno Unito (1987), gli USA (1988), il Canada (1989), l'Australia (1989) e l'Unione Europea (1989) (Champ, 2000) hanno proibito l'impiego del TBT, sebbene esclusivamente sulle imbarcazioni da diporto (<25 mt).

A seguito dell'osservazione dei suddetti effetti avversi, sono state condotte ricerche approfondite sulla tossicità e sull'accumulo del TBT. Tali ricerche hanno mostrato una notevole stabilità del biocida nei sedimenti, con tempi di dimezzamento da uno a nove anni (Omae, 2003) e, pertanto, la rimozione di questo composto dall'ambiente è risultata molto più lenta e difficoltosa di quanto si fosse stimato inizialmente. Inoltre, è stato evidenziato che il TBT presenta un elevato potenziale di bioaccumulo in diversi organismi marini, come pesci e molluschi, dove le concentrazioni arrivano ad essere $10^3 - 10^5$ volte maggiori di quelle ritrovate nell'ambiente acquatico (Weidenhaupt et al, 1997). Relativamente alla tossicità, alcuni studi hanno rivelato che pochi nanogrammi per litro di TBT causano disturbi nella divisione cellulare delle diatomee, nella riproduzione di specie dello zooplancton e nello sviluppo larvale di alcuni bivalvi (Alzieu et al., 1989). In aggiunta, Bentivegna e Piatkowski (1998) hanno evidenziato che concentrazioni inferiori a 50 $\mu\text{g/L}$ di TBT rallentano lo sviluppo embrionale del pesce d'acqua dolce *Oryzias latipes* e provocano malformazioni neuromuscolari e scheletriche nelle sue larve. Infine, è stato notato che concentrazioni di TBT comprese fra 0,5 - 2 ng/L determinano disordini riproduttivi come l'imposex nei gasteropodi marini esposti (Bryan and Gibbs, 1991).

Le numerose evidenze di tossicità hanno portato all'inserimento del TBT nell'elenco delle sostanze pericolose prioritarie (Decisione 2455/2001/CE del Parlamento Europeo e del Consiglio).

1.3 Rame e Zinco

Il rame ed i suoi composti quali l'ossido rameoso (Cu_2O), il tiocianato di rame (CuSCN) ed il rame piritione (CuPT), sono presenti frequentemente nelle pitture antivegetative, per la loro efficacia contro una buona parte degli organismi marini responsabili del fouling (ad es. balani, anellidi e varie alghe). La quantità di rame tipicamente utilizzata varia tra il 30 ed il 4% in peso, sebbene si sia sempre alla ricerca di soluzioni che permettano un'ulteriore riduzione di rame senza diminuire l'efficacia complessiva della formulazione.

Il rame è un elemento essenziale per le piante e gli altri organismi acquatici, ma quando è presente in quantità eccessive ed in particolari forme biodisponibili, può risultare tossico. Tra le forme ioniche in cui appare in acqua, la più biodisponibile è lo ione idrato ($\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_6^{2+}$) (Voulvoulis et al., 1999). Comunque, in generale, il rame tende a formare composti con una bassa lipofilità e quindi una scarsa tendenza al bioaccumulo. Il rilascio di questo metallo da parte di pitture antivegetative, fornisce una quota significativa del carico globale di rame in aree, quali porti e porticcioli, con un'alta densità di imbarcazioni ormeggiate. Pertanto alcuni paesi hanno iniziato a limitarne l'utilizzo. Ad esempio, l'Health Canada richiede che le vernici AF contenenti rame abbiano un tasso di rilascio inferiore a $40 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{giorno}$ (HC, 1994) e in Danimarca sono vietate le pitture che rilasciano rame in quantità superiore a $200 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ nei primi 14 giorni dall'applicazione (DEPA, 2003).

Lo zinco è presente nelle pitture antivegetative soprattutto sotto forma di ossido di zinco (ZnO) e zinco piritione. Anche questo è un elemento essenziale che entra nella composizione dei metallo-enzimi e gioca un ruolo nella sintesi di acidi nucleici e nella difesa immunitaria. Al di sopra di certe concentrazioni, però, questo metallo diventa tossico per l'ambiente acquatico. Fra gli organismi marini, le macroalghe sono le più sensibili ($\text{EC}_{50}=25 \mu\text{g}/\text{L}$), seguite dai crostacei ($\text{LC}_{50}=890 \mu\text{g}/\text{L}$) e dai batteri ($\text{EC}_{50}=2000 \mu\text{g}/\text{L}$) (Ytreberg et al., 2010).

Rame e zinco, diversamente dallo stagno, sono, tuttavia, ancora ritenuti biocidi "accettabili" dal legislatore ma, considerati i rischi connessi a loro elevate concentrazioni ambientali, si delinea la necessità di monitorarli costantemente.

1.4 Irgarol 1051

L'Irgarol 1051 (2-Metiltio-4-terz-butilamino-6-ciclopropilamino-s-triazina) appartiene alla famiglia delle s-triazine ed è stato il primo biocida booster ad avere rilievo come inquinante ambientale.

Nonostante questo composto abbia una solubilità in acqua di 7 mg/L ed un coefficiente di ripartizione ottanolo/acqua relativamente alto ($k_{ow}=3.95$), non presenta una elevata tendenza all'accumulo nel sedimento, preferendo, a tale matrice, la colonna d'acqua (Tolosa et al., 1996; Hall et al., 1999; Boxall et al., 2000; Haglund et al., 2001; Thomas et al., 2002). È stato ipotizzato che il 95% dell'Irgarol 1051 (d'ora in avanti "Irgarol") residuo si ritrovi disciolto nell'acqua di mare, e solo il 4,4% nel sedimento (Liu et al., 1997).

L'Irgarol è soggetto a degradazione biologica, chimica e fotodegradazione. Il suo tempo di dimezzamento in acqua è stato stimato fra 100 e 350 giorni (Ciba Geigy, 1995, Okamura et al., 1999; Thomas et al., 2002) e, pertanto, è considerato un composto persistente (Callow e Willingham, 1996). Anche il suo derivato dealcolato, M1 (2-metiltio-4-terz-butilammino-6-ammino-s-triazina), che costituisce il principale prodotto di degradazione, è abbastanza stabile e tossico, anche se in misura minore dell'Irgarol (Okamura et al., 2000a).

L'azione tossica viene esplicita attraverso l'inibizione del trasporto degli elettroni nel Fotosistema II dei cloroplasti. Dunque, l'Irgarol risulta più tossico per i produttori primari (micro- e macroalghe, piante marine) che per gli altri organismi acquatici (Rogers et al., 1996). Alcuni lavori hanno evidenziato un rischio per le barriere coralline dovuto all'uso indiscriminato dell'Irgarol sulle imbarcazioni nelle acque tropicali (Connelly et al., 2001; Carbery et al., 2006). Infatti, sembra che l'Irgarol penetri velocemente nei coralli e riduca l'efficacia fotochimica delle specie algali simbiotiche necessarie per la sopravvivenza dei coralli stessi. Altri autori (Okamura et al., 2000b) hanno riportato un'azione fitotossica dell'Irgarol nei confronti di varie alghe marine a concentrazioni comprese tra 0.6 e 5.9 µg/L. Inoltre, l'effetto inibitore sulla fotosintesi è stato osservato anche a concentrazioni dell'ordine di pochi ng/L (Jones, 2005; Carbery et al., 2006).

Per tali motivi, l'Irgarol è stato incluso nella lista delle sostanze prioritarie dalla Direttiva Europea sulle Acque 2013/39/EC, che ha fissato a 2,5 ng/L la concentrazione media annua (SQA-AA) ed a 16 ng/L, la concentrazione massima ammissibile (SQA-CMA) in acqua per tale sostanza. Tali limiti sono leggermente più conservativi rispetto a quello fissato dall'Istituto Olandese per la Salute Pubblica e l'Ambiente che è pari a 24 ng/L (Lamoree et al., 2002).

Inoltre, in alcuni Paesi (Regno Unito, Danimarca, Finlandia, Australia) l'uso dell'Irgarol è stato completamente vietato (Bowman et al. 2003; DEPA, 2008; EPA 2011; Australian Pesticides and Veterinary Medicines Authority).

1.5 Diuron

Il Diuron (3-(3,4-dichlorophenyl)-1,1-dimethylurea) appartiene alla classe delle feniluree e proviene dal mondo agricolo dove è impiegato, fin dagli anni '50, come erbicida.

La sua solubilità in acqua (35-42 mg/L) ed il coefficiente di partizione K_{ow} pari a 2.8 suggeriscono la sua presenza principalmente nella fase disciolta anziché nei sedimenti. Inoltre è stato osservato che il Diuron ha

un fattore di bioaccumulo (Call et al., 1987) inferiore a 2 e quindi viene rapidamente eliminato dagli organismi.

Questo composto, come l'Irgarol, esibisce una degradazione molto lenta in acqua di mare. Per esempio, Thomas et al., (2001) hanno misurato una degradazione pari appena all'1%, dopo 42 giorni. Il tempo di dimezzamento calcolato per il Diuron nelle acque superficiali è compreso tra 1 mese ed un anno (Giacomazzi et al., 2004). Velocità di degradazione più elevate si registrano nel sedimento marino, in condizioni anaerobiche, con i tempi di dimezzamento che variano fra 14 e 35 giorni (Thomas et al., 2003). Se, però, il Diuron è intrappolato in particelle di pittura, all'interno del sedimento, la sua stabilità aumenta considerevolmente e la degradazione diventa trascurabile.

L'azione antivegetativa del Diuron, analogamente all'Irgarol, consiste nell'interruzione della catena di trasporto degli elettroni nel Fotosistema II dei cloroplasti, che determina l'inibizione della fotosintesi. Il Diuron risulta tossico anche nei confronti di pesci e cladoceri (Fernández-Alba et al., 2002; Okamura et al., 2002).

Queste ed altre osservazioni hanno spinto alcuni Paesi, come il Regno Unito e la Danimarca (DEPA, 2008), a vietare l'uso del Diuron come ingrediente attivo nelle pitture AF, su imbarcazioni di qualsiasi lunghezza. In Svezia, invece, il divieto è valido solo per le imbarcazioni inferiori a 25 mt. In altri posti, si è cercato di regolamentare il problema, fissando dei limiti alle concentrazioni ambientali di questo biocida. Per esempio, l'Istituto Olandese per la Salute Pubblica e l'Ambiente ha proposto una concentrazione massima di Diuron, nell'acqua, pari a 430 ng/L, basandosi sui risultati di un'analisi di rischio effettuata con dati di tossicità del Diuron relativi a diversi organismi acquatici (Lamoree et al., 2002).

A livello europeo, il Diuron è stato incluso nell'elenco delle sostanze prioritarie dalla Direttiva 2000/60/CE e la Direttiva 2008/105/EC ha fissato a 200 ng/L il valore di SQA-AA ed a 1800 ng/L il valore di SQA-CMA per tale sostanza in acqua.

1.6 Il Progetto Carisma

Il progetto CARISMA (Caratterizzazione chimico-fisica, ecotossicologica - ed Analisi RIschio ecologico di biocidi antivegetativi nel Sud del Mare Adriatico) è stato selezionato tra i Progetti di grande rilevanza nell'ambito dell'Accordo di Collaborazione Scientifica e Tecnologica fra la Repubblica Italiana e la Repubblica di Albania ed è stato cofinanziato dal Ministero degli Affari Esteri (MAE).

Il principale obiettivo del progetto era di incrementare la conoscenza della qualità del tratto di mar Adriatico compreso fra Italia ed Albania e di valutare, in particolare, l'impatto dovuto all'utilizzo delle pitture antivegetative.

Nel triennio 2012-2014, nell'ambito di tale progetto, è stata realizzata una campagna di monitoraggio multidisciplinare lungo le coste Italiane (Puglia) ed albanesi.

In particolare, sono state eseguite analisi chimiche di TBT, Irgarol e Diuron, rame e zinco. Inoltre, per valutare complessivamente il carico di tossicità presente nelle acque indagate, sono stati effettuati dei saggi ecotossicologici, che consentono di valutare l'azione tossica esercitata dall'insieme dei contaminanti eventualmente presenti.

Infine, è stata eseguita un'analisi probabilistica di rischio ecologico (ERA) per valutare la probabilità di potenziali effetti avversi per l'ecosistema marino, da parte dei biocidi indagati.

Si sottolinea che, per quanto ne sappiamo, non esistono, per l'Albania, altri dati di monitoraggio dei biocidi AF selezionati. In Italia, invece, tali biocidi sono stati monitorati in alcune località (Chiavarini et al. 2003; Cicero et al. 2004; Terlizzi et al. 2004; Di Landa et al. 2009; Nödler et al. 2014; Massanisso et al. 2015), ma non lungo la costa pugliese. Pertanto, si è ritenuto opportuno redigere un rapporto tecnico per divulgare i risultati delle attività svolte all'interno della comunità scientifica.

1.7 Siti di campionamento

I campionamenti sono stati effettuati in un'area marina protetta (Torre Guaceto, Puglia) ed in 12 porti medio-grandi, frequentati soprattutto da pescherecci ed imbarcazioni da diporto. La scelta di campionare nei porti è stata dettata dall'intenzione di rappresentare lo scenario peggiore.

I campionamenti sono stati effettuati con frequenza annuale, sia durante la stagione nautica (a settembre 2012 e luglio 2013) che durante l'inverno (marzo 2014), quando il traffico nautico è molto meno intenso. Inoltre, solo a Manfredonia sono stati effettuati campionamenti anche a dicembre 2013 (al di fuori della stagione nautica).

In dettaglio, il primo anno (2012) i campionamenti sono stati eseguiti in tre grandi porti pugliesi (Manfredonia, Trani and Margherita di Savoia) e nei tre principali porti albanesi (Shengjin, Durazzo ed il porto di Valona destinato ai pescherecci). Nei due anni successivi (2013 e 2014), il numero di porti è stato ampliato: in Puglia, sono stati monitorati anche i porti di Brindisi, San Foca di Melendugno ed Otranto, oltre all'area marina protetta di Torre Guaceto. In Albania, sono stati aggiunti il porto di Valona destinato ai traghetti ed Orikum, che è l'unica marina turistica del paese.

In tutti i siti di monitoraggio sono stati prelevati campioni acquosi e, quando possibile, sedimento e biota (mitili e ricci).

Le caratteristiche di ciascun porto e la loro distribuzione sono riportate rispettivamente in Tab. 1 ed in Fig. 3.



Figura 3 - Siti di campionamento in Italia (verde) ed in Albania (rosso).

Porto	ID	Tipologia	Ormezzi n.
Italia			
Manfredonia	MN	Commerciale, turistico, pescherecci	365
Margherita di Savoia	MDS	Turistico, pescherecci	200
Trani	TR	Commerciale, turistico, pescherecci	550
Torre Guaceto	TG	Area marina protetta (MPA)	
Brindisi	BR	Commerciale, turistico	648
San Foca	SF	Turistico	500
Otranto	OT	Turistico	390
Albania			
Shengjin	SH	Pescherecci	28
Durazzo	DR	Commerciale	98
Valona pescatori	VLP	Pescherecci	61
Valona traghetti	VLT	Commerciale	
Orikum	OR	Turistico	70

Tabella 1. Siti di monitoraggio, con l'indicazione delle abbreviazioni, della tipologia e del numero di ormezzi.

2. MATERIALI E METODI

2.1 Campionamento di acqua, sedimento e biota

I campioni acquosi sono stati prelevati alla profondità di 50 cm, mediante un campionatore a doppia asta (International PBI, Milano, Italy), e sono stati conservati in bottiglie di vetro, quando destinati all'analisi dei composti organici (TBT, Irgarol e Diuron), ed in bottiglie di plastica (PE), per le analisi dei metalli. I campioni acquosi da impiegare per l'analisi del TBT, sono stati acidificati in campo, a pH 2, con acido nitrico.



Figura 4 -Prelievi col campionatore a doppia asta

I sedimenti sono stati raccolti, solitamente al centro del porto ed a profondità variabili fra 3 e 12 metri, impiegando una benna di Van Veen in acciaio e utilizzando, come contenitori, barattoli di vetro, con tappo in plastica.



Figura 5 - Prelievi di sedimento con la benna di Van Veen.

Tutti i campioni (acqua, sedimenti, mitili e ricci) sono stati trasportati in borse termiche a 4°C. In particolare, i mitili erano chiusi in buste di plastica, mentre i ricci erano avvolti in panni bagnati con acqua di mare.



Figura 6 - Alcuni momenti della raccolta dei mitili



Figura 7 - Conservazione dei ricci per il trasporto in laboratorio.

Arrivati in laboratorio, i campioni acquosi sono stati conservati in frigorifero, al buio, a 4°C, fino al momento dell'estrazione, eseguita sempre entro 24 ore dall'arrivo.

I sedimenti ed i mitili, sono stati congelati a -20°C, mentre i ricci sono stati processati nella stessa giornata della raccolta.

2.2 Metodi analitici per la determinazione dei biocidi Irgarol e Diuron

Dopo filtrazione su membrane di acetato di cellulosa a 0,45 µm, Irgarol e Diuron sono stati estratti dai campioni acquosi mediante la tecnica SPE (Solid Phase Extraction), con cartucce Lichrolut EN da 3 ml/200 mg (Merck, Darmstadt Germany). Su ogni cartuccia sono stati caricati 500 ml di campione e gli analiti target intrappolati sulla fase stazionaria sono stati eluiti mediante tre lavaggi con metanolo (MeOH). Gli estratti metanolici sono stati portati a secco, sotto un leggero flusso di azoto, a 35°C, e ricostituiti con 450 µl di una soluzione 50:50 MeOH/acetato di ammonio 10 mM, pH=4. Dopo l'aggiunta di 50 µl di standard interno (atrazina-d5 (Sigma-Aldrich); 1 mg/L in MeOH), i campioni sono stati filtrati su filtri per HPLC da 0,2 µm (Anotop, Whatman) e trasferiti in vial da 2 ml, per l'analisi all'HPLC. Tale procedura è descritta dettagliatamente in Manzo et al. (2014a).

I sedimenti sono stati liofilizzati e setacciati a 2 mm. Per l'estrazione degli analiti target, a 2 g di sedimento liofilizzato sono stati aggiunti 5 ml di H₂O Milli-Q e, dopo 60 minuti di agitazione magnetica, sono stati aggiunti 20 ml di MeOH. Tale soluzione è stata sottoposta, in successione, ad agitazione di 15 minuti, sonicazione a 40°C per 30 minuti ed a centrifugazione a 3000 rpm e 23°C, per 5 minuti. Dopo aver recuperato il surnatante, sono stati aggiunti altri 20 ml di MeOH ed è stata effettuata una seconda estrazione secondo la modalità descritta. Gli estratti riunificati sono stati sottoposti ad evaporazione, mediante rotovapor, per ridurre il volume a 5 ml. Quindi, per poter estrarre gli analiti target su cartucce SPE (Lichrolut EN), il campione concentrato è stato diluito con H₂O Milli-Q ad un volume finale di 90 ml ed è stato estratto secondo la procedura descritta per i campioni acquosi. Il limite di rilevabilità (Limit Of Detection, LOD) del metodo è uguale a 1,5 ng/g per il Diuron ed a 1,4 ng/g per l'Irgarol, con un errore sulle misure sempre ≤ 10%.

L'analisi qualitativa e quantitativa dei biocidi estratti da entrambe le matrici (acqua e sedimenti), è stata eseguita mediante un HPLC Perkin Elmer 200 (Norwalk, CT), dotato di autocampionatore ed accoppiato ad uno spettrometro di massa (LC-MS) a singolo quadrupolo (API 150 EX, Applied Biosystem Sciex, Foster City, CA), con una sorgente di ionizzazione electrospray (ESI), operante in modalità ioni positivi. Il volume di iniezione per tutte le analisi era di 50 µl. Per la separazione cromatografica degli analiti è stata impiegata una colonna LUNA C18, 3 µm, 50×4.6 mm I.D., con precolonna appropriata (Phenomenex, Torrance CA). L'eluizione è stata ottenuta utilizzando, come eluenti, acetato di ammonio 10 mM (B) e MeOH (A), ad una velocità di flusso di 0,75 ml/min., e con il seguente gradiente lineare: dal 55% di A all'86% di A in 12,5 minuti (più 5 minuti all'86%, per il lavaggio della colonna).

Per ogni composto sono stati rilevati due o tre ioni (di quantificazione e di conferma), in modalità SIM (Selected Ion Monitoring). La determinazione quantitativa è stata effettuata mediante curve di calibrazione costruite con miscele standard a concentrazioni note, comprese fra 2,5 ng/L e 500 ng/L.

Il Limite di rilevabilità (Limit of Detection, LOD) è stato determinato facendo delle aggiunte (spike) di quantità note di analiti target a campioni di acqua marina prelevata ad un miglio dalla costa, dopo aver verificato che tali campioni non contenessero biocidi in quantità rilevabili dal nostro strumento. Sono stati ottenuti valori di LOD pari a 1,0 ng/L e 0,2 ng/L, in acqua, e pari a 1,0 ng/g p.s. e 0,5 ng/g p.s., in sedimento, rispettivamente per Diuron ed Irgarol.

Gli errori associati a tutte le misure sono sempre $\leq 10\%$.

2.3 Metodi analitici per la determinazione del TBT

Il metodo per la determinazione dei composti organostannici è stato sviluppato e ottimizzato presso i laboratori dell'ENEA. Al campione in esame viene aggiunta una quantità appropriata di una soluzione arricchita di ^{119}Sn (soluzione isotopicamente arricchita di monobutilstagno (MBT), dibutilstagno (DBT) e tributilstagno (TBT)). Tale soluzione è utilizzata come standard interno di procedura e di quantificazione. Al fine di migliorare l'efficienza di estrazione della specie monosostituita, l'estrazione è eseguita con una soluzione di tropolone 0,03%, in diclorometano. Dopo evaporazione e cambio di solvente (esano), i composti organostannici sono pentilati mediante reattivo di Grignard e la soluzione viene purificata su colonna di gel di silice. Infine, l'analisi della soluzione concentrata è realizzata mediante GC-MS in modalità SIM.

Il LOD, per il TBT misurato come stagno, è pari a 0,3 ng/L, in acqua, e 0,5 $\mu\text{g Sn/kg}$, nel sedimento. Gli errori associati a tutte le misure sono sempre $\leq 10\%$.

L'analisi del TBT nei sedimenti è descritta in Chiavarini et al. (2003).

2.4 Analisi dei metalli

L'analisi dei metalli in acqua di mare è stata effettuata utilizzando un ICP-MS (Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry) PE Elan 6000 (Perkin Elmer, Inc., Shelton, USA). L'acquisizione è stata realizzata per peak hopping, con un dwell time pari a 50ms. La calibrazione delle masse indagate è stata effettuata mediante 5 soluzioni standard, a diverse concentrazioni degli analiti, preparate diluendo soluzioni standard certificate monoelemento PE Pure Plus (Perkin Elmer, Inc, Shelton, USA) in HNO_3 1%. Quale sistema di introduzione del campione, è stato impiegato un analizzatore Flow Injection FIAS-400MS (Perkin Elmer) direttamente collegato all'ICP. La determinazione dei metalli è stata effettuata nelle condizioni strumentali descritte da Willie et al. (1998). Per la preconcentrazione e l'eliminazione della matrice salina è stata utilizzata una colonna (50 μl) impaccata con Toyopearl AF-Chelate-650M, quale resina chelante, equilibrata in tampone NH_4OAc 0,5 M. La soluzione eluente era costituita da HNO_3 1N. L'accuratezza del metodo è

stata assicurata analizzando anche due campioni di acqua di mare certificata per metalli in tracce (NRCC: SRMs CASS-3 e NASS-4).

L'estrazione dei metalli dai sedimenti è stata realizzata mediante digestione acida (HNO₃ 67%, H₂O₂ 30% e HF 47%, 4:2:1 v/v/v), secondo la seguente procedura: 5 min a 300 W; 5 min a 600 W; 15 min a 1000 W e, infine, 10 min a 0 W per il raffreddamento, usando un forno a microonde Multiwave. L'eccesso di HF è stato rimosso con una seconda mineralizzazione nel microonde con H₃BO₃. L'analisi è stata effettuata con ICP-MS.

Gli errori associati a tutte le misure sono sempre $\leq 5\%$.

2.5 Saggi ecotossicologici

I campioni di acqua di mare sono stati utilizzati per i saggi ecotossicologici senza subire alcun trattamento. I campioni di sedimento sono stati trattati in modo da ottenere l'acqua interstiziale e gli eluati secondo le procedure riportate in ASTM (1994).

Sulle matrici acquose è stata effettuata la seguente batteria di saggi ecotossicologici: test di inibizione della bioluminescenza con il batterio *Vibrio fischeri*, test di inibizione della crescita algale con *Dunaliella tertiolecta* (UNI EN ISO 10253, modificato), test con il crostaceo *Artemia salina* (24h e 96h) (APAT_IRSA 2003), saggi di spermiotossicità ed embriotossicità con il riccio di mare *Paracentrotus lividus* (Manzo et al., 2006).

Sui sedimenti tal quali è stato condotto solo il test di contatto con *V. fischeri* (APAT_IRSA).

Tutti i risultati sono stati espressi come EC₅₀ (Concentrazione alla quale si misura il 50% Effetto) e, laddove non era possibile, come massima percentuale di effetto rispetto al controllo.

Nelle località di Valona e Shengjin sono stati prelevati esemplari di *P. lividus* i cui gameti sono stati utilizzati in laboratorio per valutare la capacità di fecondazione di echinoidi autoctoni rispetto al controllo. In particolare, sono stati condotti saggi di fecondazione sia nell'acqua prelevata a Valona e Shengjin che in acqua di mare artificiale (ASTM) utilizzata come controllo.

Sulle matrici acquose ottenute dal trattamento dei sedimenti (eluati e acque interstiziali) sono stati effettuati tutti i test della batteria applicata alle acque di mare.

L'integrazione dei risultati ottenuti dalle batterie di test effettuate sui campioni di acqua e sulle matrici acquose dei sedimenti nell'indice integrato di tossicità (TIB) è stata condotta come riportato in Manzo et al. (2014b). L'indice è stato calcolato utilizzando un modello che tiene conto della severità dell'effetto, del grado della risposta, della variabilità del test, della consistenza tra i risultati dei test e del numero di endpoint misurati. I valori di TIB calcolati permettono di ottenere una valutazione della percentuale di rischio ecotossicologico per ogni porto. A valori di TIB <5% il rischio ecotossicologico viene considerato assente.

Se dall'integrazione dei risultati il TIB risulta essere compreso tra il 5 e il 20% il rischio ecotossicologico è medio - basso, tra 20 e 50% il rischio è alto se invece il TIB è > 50% il rischio risulta essere molto alto.

2.6 Analisi di rischio ecologico (ERA)

L'analisi di rischio ecologico (ERA, Ecological Risk Assessment) è un processo iterativo che valuta la probabilità che possano verificarsi o si stiano verificando effetti ecologici avversi in conseguenza dell'esposizione ad uno o più agenti stressanti.

L'analisi probabilistica di rischio ecologico è stata eseguita come descritto in Guidelines for Ecological Risk Assessment US EPA (1998), valutando il rischio attraverso tre fasi fondamentali (formulazione del problema, analisi e caratterizzazione del rischio) che possono essere reiterate più volte al fine di ottenere un'accuratezza dei risultati sempre maggiore.

I valori soglia di tossicità, corrispondenti al 5° percentile delle distribuzioni delle concentrazioni degli effetti, sono stati ottenuti come descritto in Di Landa et al. (2009), per l'Irgarol ed il Diuron, ed in Hall et al. (2000), per il TBT. Il 5° percentile rappresenta la concentrazione limite al di sotto della quale il 95% delle specie investigate possono essere considerate protette.

Per ogni contaminante esaminato, il risultato finale è stato espresso come percentuale della probabilità di eccedenza del 5° percentile in ogni porto investigato.

3. RISULTATI E DISCUSSIONE

3.1 Metalli

3.1.1 Acque

I risultati ottenuti dalle analisi chimiche del rame e dello zinco nei campioni acquosi, sono illustrati schematicamente in Fig. 8.

Poiché per il rame e lo zinco non sono previsti standard di qualità ambientale dalla normativa italiana/europea, per la valutazione dello stato chimico delle acque si è fatto riferimento agli standard di qualità ambientale indicati dal Water Research center (WRc, U.K.).

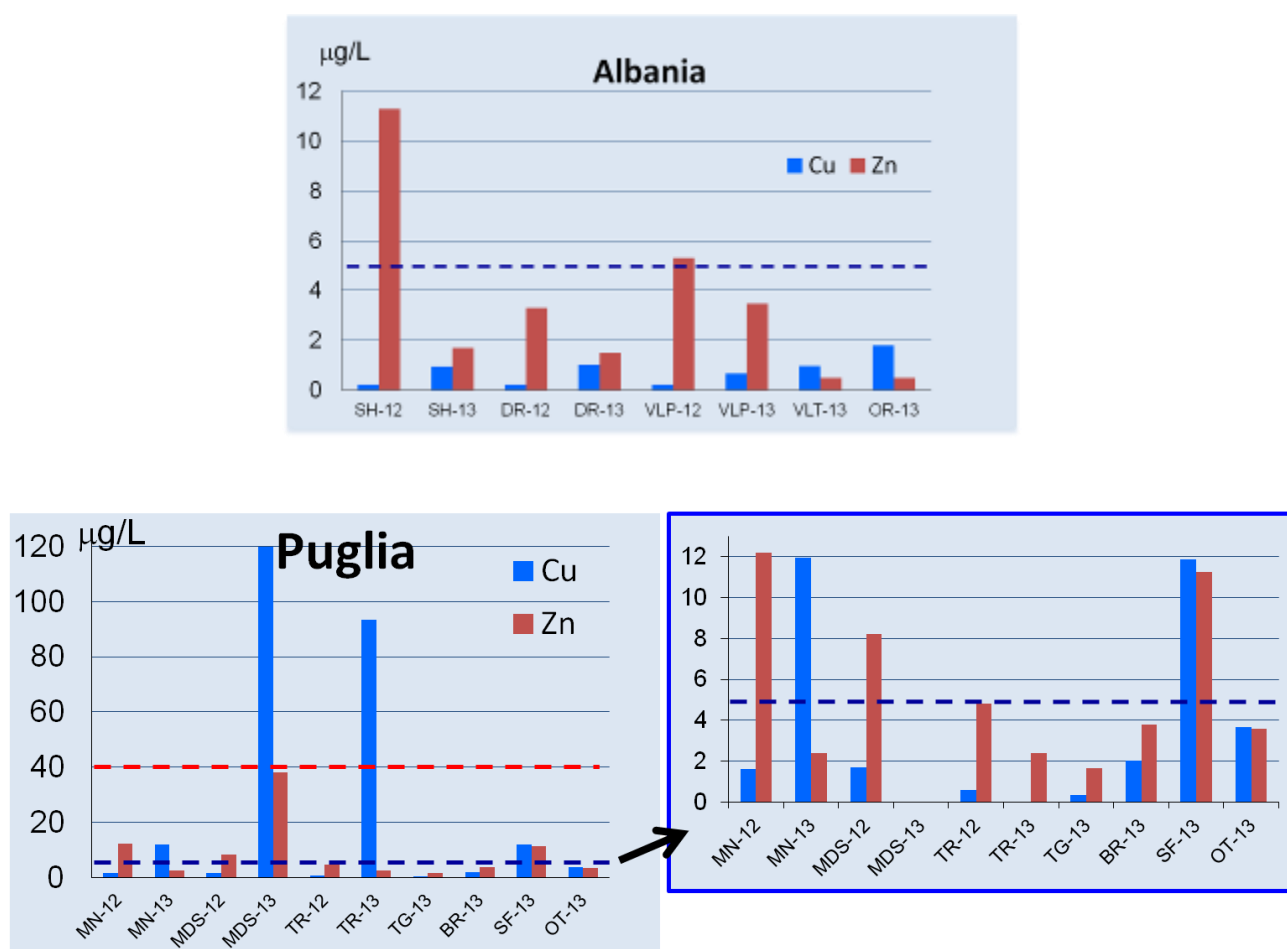


Figura 8 - Concentrazione dei metalli rame (Cu) e zinco (Zn) nelle acque costiere italiane ed albanesi. MN-12 sta ad indicare i campioni raccolti a MN nel 2012, e così via.

Le concentrazioni di rame nelle acque pugliesi mostrano una notevole variabilità, con valori che vanno dagli 0,3 µg/L di TG (TG-13), ai 120 µg/L di MDS (MDS-13).

In circa il 25% dei casi, le concentrazioni sono al di sopra di 5 µg/L, che rappresenta il valore dello standard di qualità ambientale indicato dal WRc, espresso come concentrazione media annua (SQA-AA). I superamenti si verificano sempre a luglio 2013, nel pieno della stagione nautica. In particolare, a MN e SF si rilevano concentrazioni di circa 12 µg/L (pari a 2 volte lo SQA-AA), mentre a TR e, soprattutto, ad MDS si raggiungono livelli ancora più alti, pari rispettivamente a 93,4 µg/L e 119,7 µg/L. Il superamento così marcato del limite fissato per l'SQA, indica che il rame, in questi siti, rappresenta un pericolo potenziale elevato per gli organismi acquatici.

Le coste albanesi, invece, risultano molto meno contaminate. Infatti, considerando tutti i porti ed entrambi i periodi (settembre 2012 e luglio 2013) esaminati, le concentrazioni di rame oscillano fra 0,2 e 1,8 µg/L. Pertanto, l'ecosistema marino lungo le coste albanesi non sembra essere "minacciato" dalla presenza di rame.

Per quanto riguarda i livelli di zinco nelle acque, non si notano situazioni e/o periodi critici, sia per l'Italia che per l'Albania.

La concentrazione più alta si rileva a MDS, a luglio del 2013, dove, con una quantità di zinco pari a 38 µg/L, si sfiora il valore limite di 40 µg/L, indicato dal WRc come SQA-AA. È interessante notare che questo sito si distingue anche per le concentrazioni di rame particolarmente elevate.

In tutti gli altri porti pugliesi esaminati, sia a settembre 2012 che a luglio 2013, i livelli variano fra 2,4 µg/L (MN, luglio 2013) e 12,2 µg/L (MN, settembre 2012), e quindi sono ben al di sotto della soglia di allerta individuata dal valore dello SQA-AA.

In Albania, non si individuano località hot-spot ed i livelli misurati sono paragonabili a quelli italiani, se non si considerano le concentrazioni rilevate ad MDS, nel 2013. In dettaglio, le concentrazioni medie albanesi variano fra 3,4 µg/L (DR) e 11,4 µg/L (SH), a settembre 2012, e fra <1,0 (VLT e DR) e 3,5 µg/L (VLP), a luglio 2013.

Pertanto, i livelli di zinco non rappresentano un rischio per le aree esaminate.

3.1.2 Sedimenti

Per la valutazione della qualità dei sedimenti, relativamente alla contaminazione da rame e zinco, in mancanza di altri standard di riferimento, sono stati presi in considerazione i limiti suggeriti dal National Oceanic and Atmospheric Administration (NOAA), l'agenzia federale Statunitense deputata a monitorare le condizioni dell'atmosfera e degli oceani a fini scientifici, per la tutela e l'informazione dei cittadini sulle condizioni dell'ambiente.

In particolare, il NOAA indica due limiti: l'ERL (Effects Range Low) e l'ERM (Effects Range-Median). Alle concentrazioni al di sotto dell'ERL dovrebbero essere associati effetti tossici nulli o trascurabili, mentre alle concentrazioni al di sopra dell'ERM sono attesi effetti avversi significativi.

D'altra parte, i sedimenti che hanno livelli di contaminazione compresi fra ERL ed ERM non possono essere classificati con altrettanta semplicità ma, in ogni caso, tali livelli possono essere considerati indicativi di rischi potenziali e/o della necessità di ulteriori indagini.

National Oceanic Atmosphere Administration

<i>Metal (mg/kg)</i>	NOAA ERL	NOAA ERM
Cu	34	270
Zn	150	410

The ERL and ERM (effects range median) are the 10th and 50th percentiles, respectively, on an ordered list of concentrations in sediment found in the literature that co-occur with any biological effect

Figura 9 - Standard di qualità ERL ed ERM fissati dal NOAA.

Nei sedimenti raccolti nei siti pugliesi, le concentrazioni di rame superano spesso il valore di ERL (34 mg/Kg), ma sono sempre di gran lunga inferiori al valore limite di ERM (270 mg/Kg). In questi casi, sebbene si tratti di quantità molto più basse di ERM, come spiegato, non si possono però escludere effetti tossici per l'ecosistema marino.

I livelli più bassi si registrano a TG (2,0-2,1 mg/Kg p.s.), mentre quelli più alti si osservano a MN, BR e SF. In dettaglio, a SF si verifica un notevole superamento del limite ERL solo a luglio 2013 (99,6 mg/Kg), mentre a BR ed a MN il superamento si osserva due volte, nel 2012 e nel 2013, con concentrazioni che spaziano dai 49,5 mg/Kg peso secco (p.s.) di BR (luglio 2013) ai 110,4 mg/Kg di MN (dicembre 2013). Inoltre, anche nei porti di MDS e TR si registrano, almeno una volta, concentrazioni superiori a 34 mg/Kg. In particolare, è interessante notare che MDS è l'unico sito nel quale il superamento del limite avviene al di fuori della stagione nautica. Ciò può essere spiegato tenendo presente che il numero di imbarcazioni ormeggiate non varia durante l'anno e che, durante l'estate, le barche trascorrono una parte del tempo fuori dal porto ed il loro passaggio favorisce, seppur limitatamente, la circolazione delle acque. Invece, d'inverno, probabilmente, le imbarcazioni stazionano sempre nel bacino. Un'altra ipotesi è che il carico ambientale di rame possa essere incrementato da attività di manutenzione degli scafi (rimozione e nuova applicazione di pitture antivegetative a base di rame), presso i cantieri navali nei dintorni.

In Albania, le concentrazioni di rame nei sedimenti variano di meno rispetto alla Puglia, con livelli compresi fra 22 e 53 mg/Kg p.s.. I valori medi più bassi si registrano a VLT (22,9 mg/kg p.s.) e quelli più alti a SH (39,1 mg/kg p.s.) e DR (38,7 mg/kg p.s.). Poiché, però, nei sedimenti albanesi, i livelli di rame non sono mai molto più elevati del limite ERL, è lecito non aspettarsi effetti dannosi per gli organismi acquatici locali.

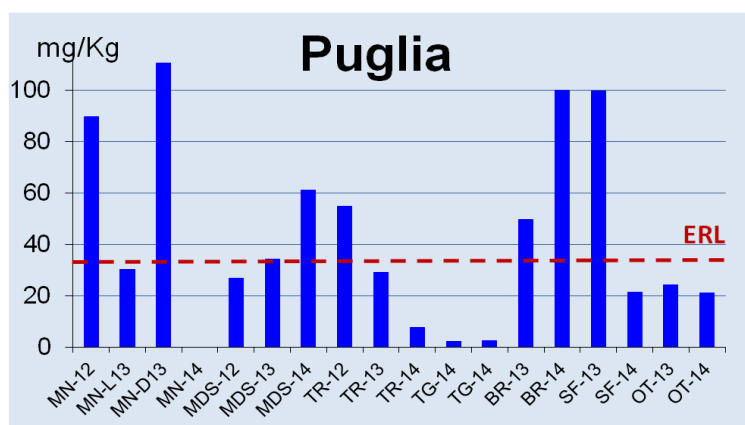
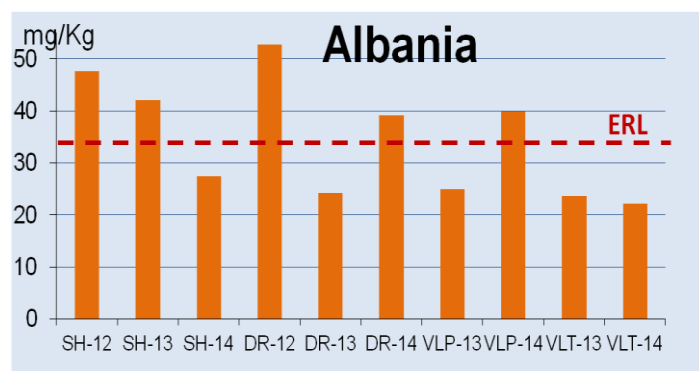


Figura 10 - Concentrazioni di rame nei sedimenti dei siti di campionamento albanesi e pugliesi. MN-L13 ed MN-D13 si riferiscono ai campioni raccolti a MN rispettivamente a luglio e dicembre 2013. Per tutti gli altri, alla sigla identificativa del porto, segue l'anno di campionamento. ERL (Effects Range Low) ed ERM (Effects Range-Median) indicati dal NOAA.

Per quanto riguarda lo zinco nei sedimenti, la situazione in Albania non evidenzia nessuna criticità, in quanto tutte le concentrazioni sono al di sotto dell'ERL (150 mg/Kg p.s.), con valori compresi fra 49,2 mg/Kg p.s. (VLT, luglio 2013) e 117,5 mg/Kg p.s. (DR, settembre 2012).

Anche nei sedimenti pugliesi, i livelli di zinco non destano preoccupazioni, con valori che solo raramente e di poco superano il limite ERL indicato dal NOAA. In dettaglio, livelli leggermente superiori all'ERL si rilevano a MN, in due campionamenti su tre, (168,6 mg/Kg p.s., a settembre 2012, e 155,3 mg/Kg p.s., a dicembre 2013), ed a BR (159,3 mg/Kg p.s.) solo nella stagione invernale del 2014.

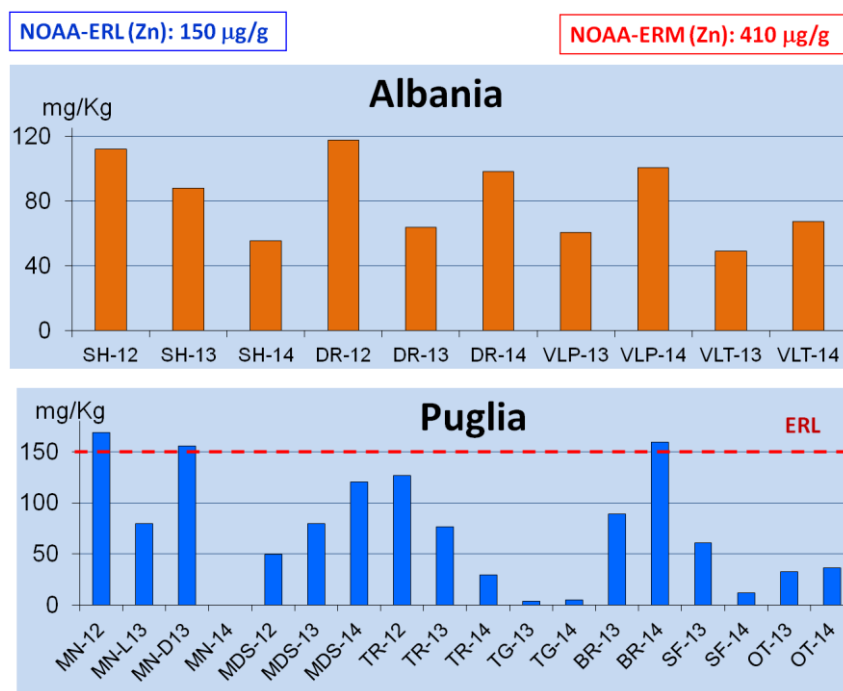


Figura 11 - Concentrazioni di zinco nei sedimenti dei siti di campionamento albanesi e pugliesi. MN-L13 ed MN-D13 si riferiscono ai campioni raccolti a MN rispettivamente a luglio e dicembre 2013. Per tutti gli altri, alla sigla identificativa del porto, segue l'anno di campionamento.

ERL (Effects Range Low) ed ERM (Effects Range-Median) indicati dal NOAA.

Pertanto, le concentrazioni di zinco nei due paesi sono simili anche se esibiscono una maggiore variabilità in Puglia, con la conseguenza che i livelli più alti e più bassi si determinano proprio in questa regione.

Complessivamente, MN e, a seguire, BR, risultano essere i siti più contaminati da rame e zinco, mentre TG, OT e VLT i meno inquinati.

3.2 TBT

3.2.1 Acque

Il TBT, sebbene sia stato bandito dalle pitture antivegetative dal 2008, si osserva spesso nei campioni acquosi prelevati in Puglia ed in Albania. Ciò può essere dovuto alla elevata persistenza di questo contaminante e/o ad un suo uso illegale nelle pitture antivegetative.

Le concentrazioni più alte si registrano in Puglia, nei porti di MN e MDS, con valori che arrivano fino a 37 ng Sn/L e che, frequentemente, sono al di sopra di 15 ng Sn/L. Negli altri porti, generalmente, le concentrazioni sono comprese fra <0,3 e 3,0 ng Sn/L, tranne nel porto di TR dove, a settembre 2012, si osserva un picco di 9,0 ng Sn/L. L'unico sito esente da TBT è l'area marina protetta di TG.

In Albania, il TBT non raggiunge le concentrazioni registrate in Puglia, ma comunque appare abbastanza diffuso, risultando presente in tre porti su cinque. È assente soltanto a Valona traghetti (VLT), che è un porto

molto aperto e scarsamente frequentato (circa 5 traghetti a settimana), e nella marina turistica di OR. Il mancato ritrovamento di TBT in questa marina, suggerisce che le piccole imbarcazioni da diporto (<25 mt) non siano solitamente trattate con pitture illegali a base di questo biocida. D'altra parte, la presenza di TBT in porti frequentati essenzialmente da pescherecci, quali SH e VLP, è indicativo di un utilizzo illegale di tale sostanza su questa tipologia di imbarcazioni. Le quantità rilevate nei porti albanesi variano fra <0,3 e 2 ng Sn/L, con picchi di 16, 10 e 5 ng Sn/L, registrati rispettivamente nei porti di VLP, DR e SH, sempre alla fine della stagione nautica (settembre 2012).

Tenuto conto che la SQA-MCA, stabilita dalla Direttiva 2008/105/EC, è pari a 0,62 ng Sn/L, e che tale limite viene superato nella maggior parte dei siti monitorati, si profila inaspettatamente una situazione ambientale compromessa. D'altra parte, si rileva un notevole miglioramento rispetto al periodo precedente al 2008, anno della messa al bando totale del TBT, quando, a livello mondiale, si rilevavano quantità nell'ordine di centinaia di ng Sn/L (Dafforn, 2011).

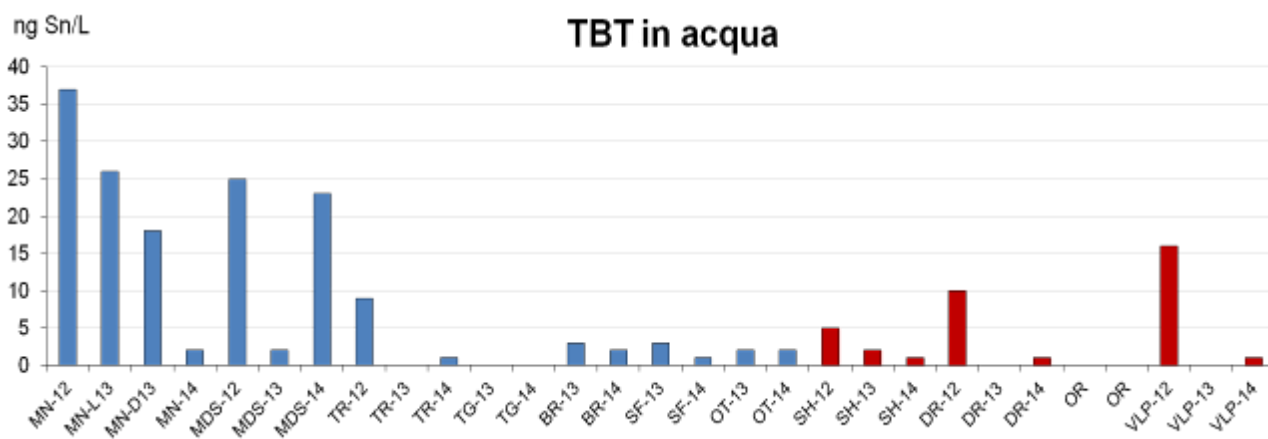


Figura 12 - TBT nelle acque costiere albanesi e pugliesi.

3.2.2 Sedimenti

Il TBT esibisce una maggiore propensione per il sedimento rispetto all'acqua, matrice in cui presenta una solubilità limitata. Inoltre, il TBT nel sedimento ha tempi di degradazione più lunghi (mesi-anni) rispetto a quelli nella colonna d'acqua (giorni-mesi), e conseguentemente le concentrazioni dovrebbero essere più alte nel sedimento che in acqua. In accordo con tale previsione, i risultati delle nostre analisi dei sedimenti hanno mostrato livelli superiori a quelli riscontrati nella colonna d'acqua.

Il TBT si osserva in tutti i campioni di sedimento, ad eccezione di quelli provenienti dall'area marina protetta di TG.

Non si notano grosse differenze fra i livelli di contaminazione da TBT delle due aree in esame (Puglia ed Albania), a parte il picco pari a 119 $\mu\text{g Sn/Kg p.s.}$, registrato, a luglio 2013, nel porto di SF. I sedimenti di questo sito risultano essere i più inquinati e, a seguire, vi sono quelli di BR (28 $\mu\text{g Sn/Kg p.s.}$) e MN (10-21 $\mu\text{g Sn/Kg p.s.}$), mentre le quantità più basse si misurano a TR.

In Albania, il porto di DR esibisce concentrazioni analoghe a quelle di BR, mentre a SH e VLP si trovano livelli paragonabili a quelli di MN.

Complessivamente, come si osserva dal grafico in Fig.13, tutte le concentrazioni misurate sono uguali o superiori alla SQA-MCA, fissata dalla Direttiva 2008/105/EC.

Una così elevata e diffusa contaminazione dei sedimenti da parte del TBT rappresenta un rischio non solo per gli organismi bentonici ma anche per quelli che vivono nella colonna d'acqua. Infatti, tali sedimenti costituiscono una potenziale fonte di TBT che può essere rilasciato in seguito ad operazioni di movimentazione, quali il dragaggio delle zone portuali.

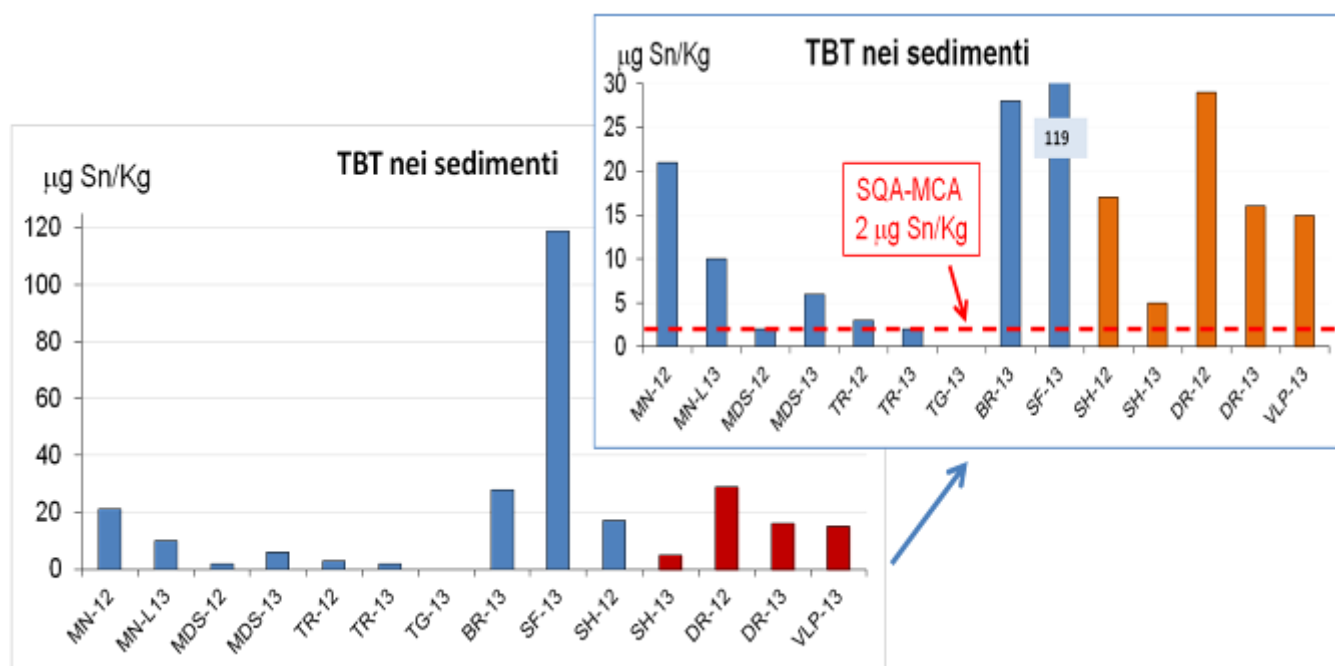


Figura 13 - TBT nei sedimenti raccolti nei siti di monitoraggio albanesi e pugliesi.

SQA-MCA: standard di qualità ambientale espresso come concentrazione massima ammissibile (Direttiva 2008/105/EC).

3.2.3 Indice di degradazione (ID)

Per ottenere indicazioni sul tempo trascorso dall'introduzione del TBT nell'ambiente, si calcola il suo indice di degradazione (ID) nel sedimento, matrice in cui il tempo di dimezzamento del TBT è pari a circa 2 anni (deMora et al. 1989). L'ID si ottiene misurando la quantità di TBT rispetto alla somma totale di tale composto e dei suoi prodotti di degradazione (DBT e MBT). Se più della metà del TBT si è degradato,

trasformandosi nei suoi prodotti di degradazione, allora l'indice di degradazione è superiore al 50% e la contaminazione si ritiene non recente (Cassi et al. 2008; Diez et al. 2002).

Nel nostro caso, è risultato che il TBT è presente da molto tempo in tutti i campioni di sedimento raccolti in Italia ed in Albania, in quanto gli indici di degradazione sono sempre >50%, con valori di ID compresi fra 53 e 84% (Tab. 2).

I valori più bassi si registrano a luglio 2013 che, quindi, corrisponde ad un periodo di maggiore rilascio di composti contenenti TBT nelle aree indagate, rispetto a settembre 2012.

Località	% ID 2012	% ID 2013
MN	78	57
MDS	80	60
TR	84	60
BR	-	53
SF	-	53
SH	56	55
DR	72	56
VLP	-	55

Tabella 2 - Indice di degradazione (ID)

3.2.4 Mitili

Concordemente con la sua propensione al bioaccumulo, il TBT è stato trovato anche nei mitili raccolti in alcuni dei siti monitorati, a concentrazioni comprese fra 120 (SH) e 843 ng/g p.s. (MDS). Poiché il valore limite raccomandato dalla Commissione per la protezione dell'ambiente marino baltico (Commissione di Helsinki - HELCOM), ai fini di un buono stato ambientale, è pari a 12 ng/g p.s., le quantità rilevate sono indicative di una situazione critica, capace di compromettere seriamente la salute dei mitili (deformazione dei gusci, imposex, immunosoppressione, ecc.). Inoltre, il TBT, se assunto in elevate quantità attraverso la catena alimentare, può provocare danni anche alla salute umana. Infatti, è in grado di indurre endocrinopatie ed effetti immunosoppressivi e neurotossici oltre a effetti teratogeni e cancerogeni (Nakanishi T and Nishikawa J.-ichi 2009).

Pertanto, le autorità preposte, alla luce dei risultati analitici ottenuti dalle nostre indagini, dovrebbero prendere adeguati provvedimenti per limitare la presenza del TBT nell'ambiente, mediante processi di rimozione e di contrasto al mercato illegale di pitture antivegetative a base di TBT.

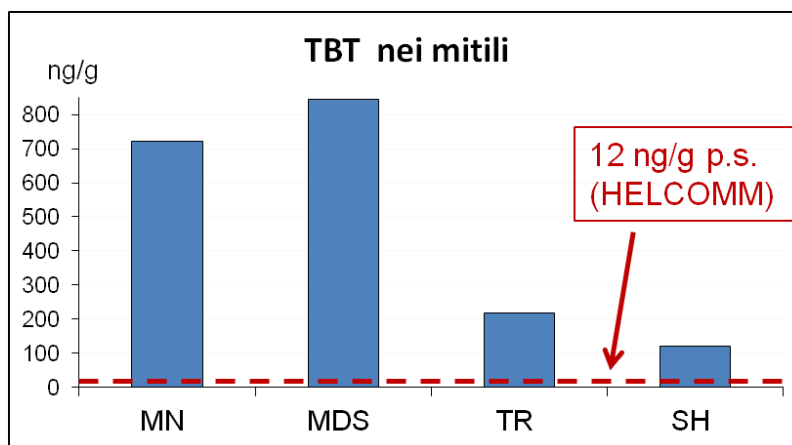


Figura 14 - TBT nei mitili raccolti nei siti di monitoraggio albanesi e pugliesi. Nel riquadro è riportato il valore limite raccomandato dalla Commissione per la protezione dell'ambiente marino baltico (Commissione di Helsinki - HELCOM).

3.3 Diuron

3.3.1 Acque

Relativamente alla contaminazione da Diuron delle acque costiere, la situazione complessiva appare buona sia in Puglia che in Albania, perché i livelli sono sempre molto inferiori alla concentrazione massima ammissibile (1800 ng/L, Direttiva 2008/105/EC).

D'altra parte, durante la stagione nautica (settembre 2012 e luglio 2013), nei porti pugliesi di MDS, TR e SF, si osserva il superamento dello standard di qualità, espresso come concentrazione media annuale (SQA-AA: 200 ng/L; Direttiva 2008/105/EC), con livelli compresi fra 223 e 300 ng/L. Tuttavia, considerando che tali concentrazioni dovrebbero essere le più elevate dell'anno, il rispetto dell'SQA-AA, in questi siti, dovrebbe comunque essere garantito.

In tutti gli altri casi, nei porti pugliesi si rilevano concentrazioni di Diuron variabili da < LOD (1 ng/L) (OT, marzo 2014; TG, sempre) a 182,7 ng/L (MDS, luglio 2013), quindi sempre inferiori anche allo SQA-AA.

La concentrazione di Diuron, mediata su tutti i porti pugliesi, è pari a circa 89 ng/L, a luglio 2013, 194 ng/L, a settembre 2012, e 30 ng/L, al di fuori della stagione nautica (marzo 2014).

I porti più inquinati sono MDS, TR e SF.

In Albania i livelli sono più bassi di quelli osservati in Italia, con valori compresi fra < LOD, a OR, durante la stagione invernale, e 86,4 ng/L, nel porto di DR, a settembre 2012.

Il periodo che presenta i livelli di maggiore contaminazione corrisponde alla fine della stagione nautica (settembre 2012), con una concentrazione media, su tutti i porti albanesi, pari a circa 40 ng/L, mentre, come atteso, il periodo con i livelli di Diuron più bassi (7 ng/L), è quello invernale, quando il traffico nautico è più scarso (marzo 2014).

Il porto mediamente più contaminato è DR (ca. 38 ng/L), mentre quelli meno inquinati sono OR e VLT (con concentrazioni medie su tutte le stagioni comprese fra 3 e 4 ng/L, per OR e VLT, e 7 ng/L, per SH).

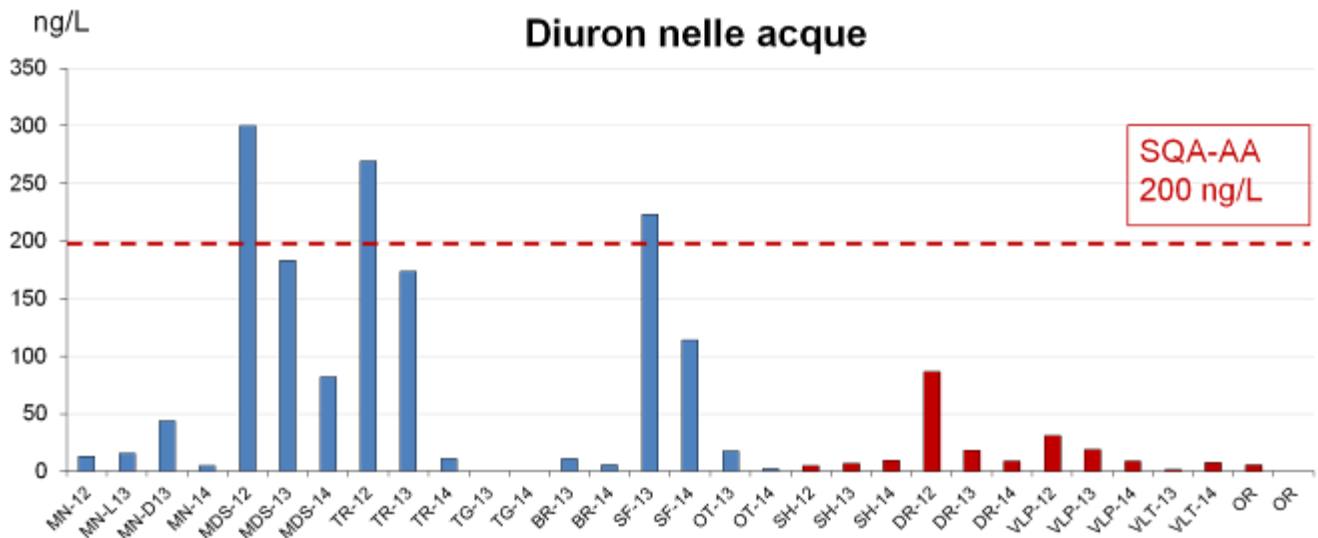


Figura 15 - Diuron nelle acque costiere albanesi e pugliesi. SQA-AA: standard di qualità ambientale espresso come concentrazione media annuale (Direttiva 2008/105/EC).

3.3.2 Sedimenti

Poiché il Diuron, concordemente col suo K_{ow} relativamente basso (2,8), non ha una grande propensione all'accumulo nel sedimento, attualmente, non esistono norme che ne definiscono gli standard di qualità in tale matrice (CARB 2008; CDWR 1995), né questo erbicida è menzionato nelle linee guida del NOAA (NOAA, 1999). Pertanto, non è possibile effettuare una valutazione qualitativa per confronto con un valore di riferimento.

Le concentrazioni di Diuron nei sedimenti raccolti nei porti oggetto della nostra indagine, hanno valori compresi fra < 1 (LOD) e 14 ng/g p.s..

In dettaglio, livelli <LOD sono stati misurati nel porto di MN, in entrambi i mesi di campionamento (luglio e dicembre 2013), sebbene, a dicembre, le concentrazioni nella colonna d'acqua sovrastante non fossero trascurabili (79,50 ng/L). Inoltre, anche per VLP, sono stati determinati valori di concentrazione inferiori al LOD, giustificati da un dragaggio effettuato, in tale porto, proprio pochi mesi prima del campionamento.

Le quantità maggiori di Diuron sono state osservate nei porti di SF (14,34 ng/g p.s.) e TR (6,49 ng/g p.s.) che presentano anche le concentrazioni più elevate nella fase acquosa (rispettivamente 212,50 ng/L e 107,00 ng/L).



Figura 16 - Diuron nei sedimenti raccolti nel 2013 nei siti di monitoraggio albanesi e pugliesi.

3.4 Irgarol

3.4.1 Acque

Le concentrazioni medie dell'Irgarol sono più alte in Italia (Puglia) che in Albania.

Per quanto riguarda la Puglia, si osserva un superamento dello SQA-AA (2,5 ng/L, Direttiva 2013/39/EC) in tutti i porti ed in tutte le stagioni, ad eccezione di TG, dove l'Irgarol non risulta rilevabile. Inoltre, a luglio 2013, si verifica il raggiungimento e/o il superamento della concentrazione massima ammissibile (SQA-MCA, 16 ng/L, Direttiva 2013/39/EC) in quattro porti su sette: MDS, TR, SF ed OT. Specialmente in questi ultimi due siti, si raggiungono livelli molto più alti del limite, pari rispettivamente a 105,3 e 64,7 ng/L.

I livelli di Irgarol osservati in Puglia sono simili a quelli rilevati nell'arcipelago di Stoccolma (3-130 ng/L; Haglund et al., 2001), nei porti dell'isola di Gran Canaria (2-146 ng/L; Sánchez-Rodríguez et al., 2011) e sulla costa atlantica nord-occidentale francese (<20-186 ng/L; Caquet et al., 2013).

Queste concentrazioni possono essere causa di effetti tossici cronici e/o acuti sugli organismi acquatici. Per esempio, Nyström e collaboratori (2002) hanno misurato un LOEC compreso fra 8 e 80 ng/L, per l'inibizione della fotosintesi in alcune specie di fitoplancton ed hanno osservato che l'esposizione ad una concentrazione di 126 ng/L è in grado di determinare dei cambiamenti nella struttura delle comunità fitoplanctoniche, nel lago di Ginevra.

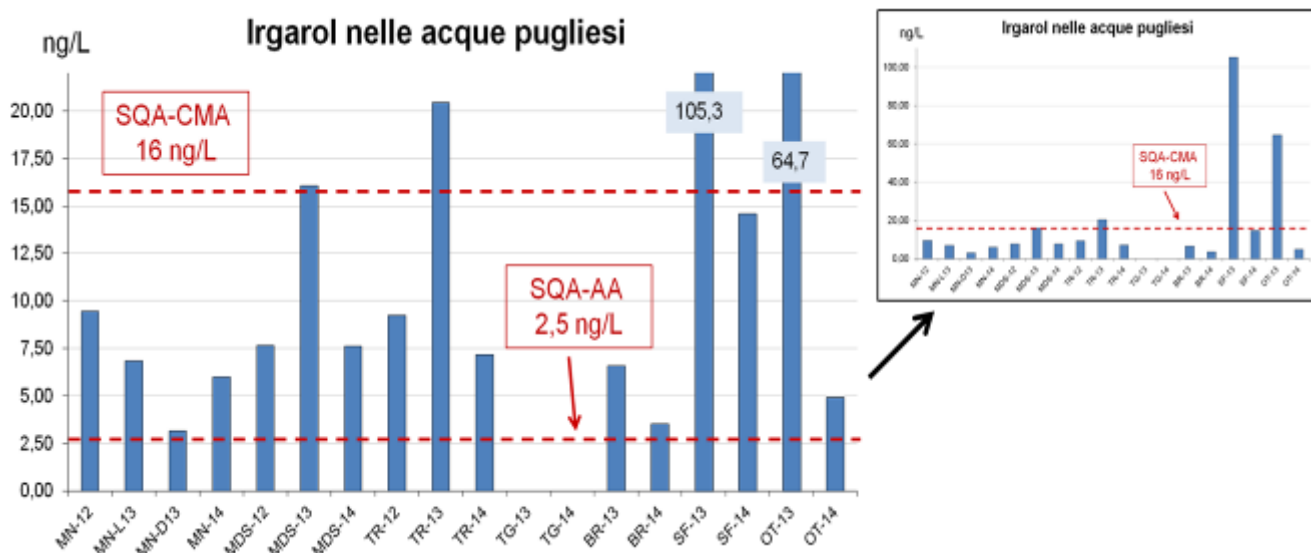


Figura 17 - Irgarol nelle acque marine pugliesi. SQA-MCA: standard di qualità ambientale espresso come concentrazione massima ammissibile (Direttiva 2013/39/EC)

In Albania, la presenza di Irgarol non sembra rappresentare un rischio per la popolazione acquatica locale. Infatti, tutte le concentrazioni sono sempre al di sotto della SQA-MCA, con valori che vanno da < LOD (0,2 ng/L) a 8.9 ng/L.

Solo talvolta, durante la stagione nautica (settembre 2012 e luglio 2013), si verifica il raggiungimento/superamento della SQA-AA; in particolare, ciò accade nella marina turistica di OR ed in entrambi i porti che ospitano prevalentemente pescherecci, cioè a SH ed a VLP.

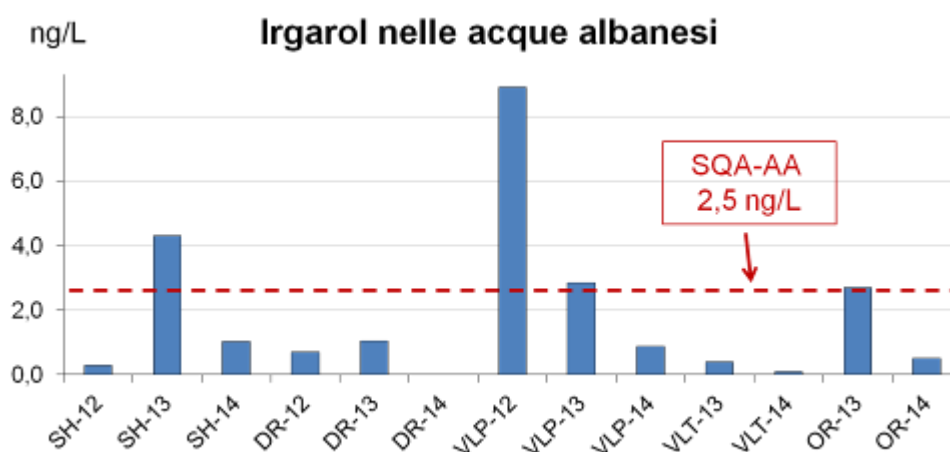


Figura 18 - Irgarol nelle acque marine albanesi. SQA-AA: standard di qualità ambientale espresso come concentrazione media annuale (Direttiva 2013/39/EC)

3.4.2 Sedimenti

Pur non essendo stati stabiliti degli standard di qualità ambientali nei sedimenti, per l'Irgarol esiste un Limite di Rischio Ambientale (ERL) che rappresenta la concentrazione oltre la quale può verificarsi il rischio della sostanza chimica per l'ecosistema. Tale limite, per l'Irgarol, è pari a 1,4 ng/g (van Wezel, 2004).

Nonostante il log K_{ow} sia relativamente alto (3,95), solo nel sito le cui acque risultavano maggiormente contaminate (SF), si riscontra con certezza la presenza di Irgarol nei sedimenti, ad una concentrazione pari a 8,4 ng/g p.s.. Negli altri casi, i picchi cromatografici corrispondenti all'Irgarol sono poco intensi (a causa delle basse concentrazioni) e coperti da un interferente che non consente di confermare la presenza del biocida.

Le basse concentrazioni rilevate nelle aree indagate possono essere spiegate dall'esistenza di correnti che disperdono l'Irgarol in mare aperto, riducendone così l'adsorbimento sul sedimento. Inoltre, a VLP, un dragaggio eseguito pochi mesi prima del campionamento ha certamente contribuito ad abbassare il livelli di contaminazione.

3.5 Il rischio ecotossicologico

Sebbene la valutazione dei risultati della batterie di test di tossicità generalmente adotta un approccio "caso peggiore", e cioè viene riportata, come risultato complessivo, la più alta tossicità misurata tra tutti i test applicati (Boedeker et al., 1993; Calow and Forbes 2003), questo approccio è stato descritto come troppo conservativo ed aspecifico poiché non permette di differenziare la rilevanza di ogni endpoint e della matrice testata. In questo studio, tutti i dati ecotossicologici ottenuti con la batteria di test sono stati integrati utilizzando la procedura TIB (Manzo et al., 2014b).

Le analisi delle acque campionate in Puglia hanno prodotto valori TIB sempre superiori al 20%, che sono indicativi di un rischio ecotossicologico alto. I valori più elevati, prossimi al 50%, si registrano per TR, e a seguire, per MDS e SF, mentre quelli più bassi sono stati misurati a BR.

Nonostante non siano state rilevate concentrazioni significative dei biocidi oggetto della nostra indagine, anche a TG si rileva un rischio ecotossicologico non trascurabile, che risulta simile a quello osservato per MN (circa il 40%). Questo risultato va spiegato come un effetto congiunto di contaminanti non oggetto di questo studio, probabilmente presenti temporaneamente nel sito di campionamento.

Le matrici acquose dei sedimenti (in seguito indicate più semplicemente come sedimenti) fanno registrare valori di rischio spesso superiori al 20%, comunque mediamente più bassi rispetto a quelli ottenuti per le acque. In questo caso, gli effetti tossici presenti nei sedimenti possono essere collegati ai sostanze chimiche con bassa solubilità che vengono rilasciati solo dopo trattamento di elutriazione.

Livelli di rischio elevato (20-50%) per i sedimenti sono stati ottenuti a MDS, TR, OT e BR. Nei primi due siti, anche il rischio calcolato per l'acqua è elevato (50%), mentre ad OT e BR, il rischio misurato per le acque è risultato minore rispetto al sedimento (20-25%). Tra tutti i siti di campionamento, SF e MN fanno registrare i valori più bassi.

Considerando entrambe le matrici, MDS risulta il sito a maggior rischio ecotossicologico (30% per i sedimenti e 50% per le acque).

Gli organismi test utilizzati nella batteria di saggi hanno risposto in modo diverso ai campioni, ed hanno mostrato una diversa sensibilità. Il saggio di tossicità algale ha mostrato il più alta frequenza di tossicità massima e quindi è risultato, tra tutti, il test più sensibile. Questa particolare sensibilità, facilmente attribuita all'esposizione cronica (72h, ISO 10253, 1995), è stata evidenziata anche in altri studi con diverse matrici (Di Capua et al. 2001; Miglietta et al. 2011; Prato et al., 2012).

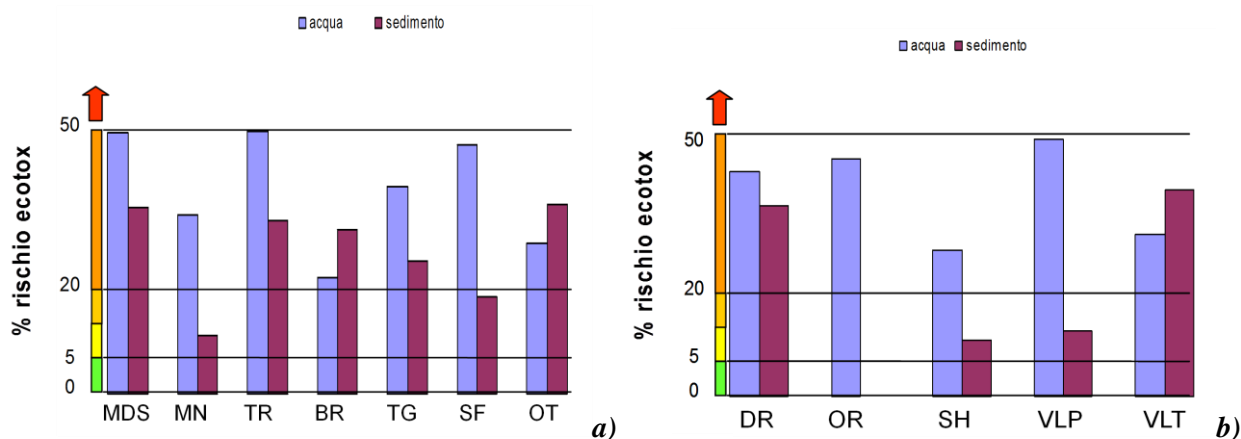


Figura 19 - Valori di TIB% e corrispondenti intervalli di rischio ecotossicologico calcolati per le acque e le matrici acquose dei sedimenti raccolti in a) Puglia e b) Albania.

Anche in Albania, i valori di TIB% per i campioni acquosi sono sempre superiori al 20%, suggerendo un elevato rischio ecotossicologico. In dettaglio, VLP esibisce il valore maggiore (48%), mentre SH quello minore (25%).

Relativamente alle matrici acquose dei sedimenti, il rischio più alto (45%) si registra a VLT e, analogamente alle acque, il più basso si ottiene per SH che quindi risulta il sito a minor rischio ecotossicologico (10%).

Sulla base dei risultati ottenuti per entrambe le matrici, risulta che per DR e VLT esiste un rischio ecotossicologico dovuto alla contaminazione sia delle acque che dei sedimenti.

D'altra parte, a SH e VLP il rischio ecotossicologico sembra derivare principalmente dalle acque.

Nella tabella 4 sono mostrati i risultati ottenuti seguendo la procedura per la valutazione del rischio ecotossicologico. Tutti i siti sono stati classificati nella categoria ad alto rischio per le acque, anche se l'indice TBI ha mostrato alcune differenze. Ciò suggerisce la necessità di apportare modifiche in tale elaborazione per evidenziare le differenze tra i risultati. A tal fine potrebbe essere opportuno rendere l'indice maggiormente sito specifico, utilizzando per il monitoraggio di un'area, solo i test risultati sufficientemente sensibili ad una prima verifica per i campioni raccolti in tale sito.

3.6 Stima probabilistica del rischio ecologico

I biocidi antivegetativi possono presentare potenziali effetti avversi per numerose specie marine e per la struttura e la funzionalità degli ecosistemi marini costieri.

Per valutare la qualità dello stato ambientale, inizialmente abbiamo confrontato le concentrazioni misurate in campo con degli standard di qualità fissati dalle Direttive europee o, in mancanza, con valori di riferimento indicati da altri enti autorevoli (es. NOAA).

Tuttavia la necessità di ottenere una valutazione sito-specifica dei potenziali effetti negativi posti dai biocidi antivegetativi, rende necessario l'utilizzo di uno strumento come l'Ecological Risk Assessment (ERA), capace di analizzare ed integrare dati, informazioni, assunzioni ed incertezze.

La prima fase della valutazione del rischio è consistita in una caratterizzazione degli effetti dei biocidi TBT, Irgarol e Diuron sulla base dei dati tossicologici riportati in letteratura, relativi agli organismi acquatici (specie vegetali per l'Irgarol ed il Diuron ed organismi bentonici e planctonici per il TBT). Questa fase ha messo in evidenza che il TBT è il biocida più tossico: infatti, il quinto percentile (5° percentile) corrisponde ad appena 2 ng/L, cioè per salvaguardare il 95% delle specie considerate, la concentrazione di TBT nelle acque non dovrebbe superare tale valore. Il biocida meno tossico è il Diuron, il cui quinto percentile è pari a 3126 ng/L.

Quindi, sulla base delle concentrazioni misurate in campo, è stata valutata la probabilità che il limite del quinto percentile potesse essere superato.

I risultati sono riportati in Tab. 3 ed indicano un rischio trascurabile associato al Diuron, per il quale le probabilità di eccedenza sono sempre basse, con valori solitamente inferiori all'1%, eccetto nei porti di TR (4%) e MDS (7%).

Un rischio leggermente superiore si ottiene per l'Irgarol, nei porti di SF (18%) ed OT (13%) che sono proprio i siti dove sono state misurate le concentrazioni più alte sia in acqua che nei sedimenti. Inoltre, nel porto di MDS, il rischio associato all'Irgarol è simile a quello determinato per il Diuron.

Il pericolo maggiore è rappresentato dal TBT, alle concentrazioni rilevate. Infatti, la probabilità di eccedenza del quinto percentile è sempre maggiore del 70% in tutti i siti monitorati (eccetto TG) e, in alcuni porti pugliesi (MN, BR e OT), arriva a superare il 90%.

Paese	Porti	Probabilità di eccedenza del 5° percentile		
		Diuron	Irgarol	TBT
Puglia (Italia)	MN	0,3	0	94
	MDS	7,0	6	85
	TR	4,0	0,2	75
	TG	-	-	-
	BR	0,0	0,1	92
	SF	0,0	18	83
	OT	0,3	13	93
Albania	DR	0	0	74
	SH	0	0,2	73
	VLP	0	0,1	77
	VLT	0	0	
	OR	0,3	0,6	

Tabella 3 - Valutazione del rischio ecologico nei porti italiani ed albanesi.

4. CONCLUSIONI

Le aree costiere sono quelle che subiscono maggiormente le pressioni derivanti dalle attività antropiche e, pertanto, i loro ecosistemi sono fra i più minacciati. Eventuali danni all'ecosistema marino, si possono ripercuotere sulla pesca e, quindi, più in generale, sull'economia e sulla qualità della vita delle popolazioni costiere.

I monitoraggi, le misure ecotossicologiche e l'analisi di rischio contribuiscono a contenere i processi di degrado degli ecosistemi marini, fornendo informazioni sul loro stato qualitativo ed ecologico.

La campagna triennale di monitoraggio di acque, sedimenti e biota nei principali porti albanesi e pugliesi, unitamente all'analisi di rischio ecologico applicata alle concentrazioni misurate, ha permesso di valutare lo stato di inquinamento delle fasce costiere da parte dei biocidi antivegetativi selezionati (Irgarol, Diuron, TBT) e di individuare le situazioni più critiche.

I risultati delle analisi chimiche, ecotossicologiche e di rischio ecologico sono riassunti schematicamente in Tab. 4.

ACQUE

	MN	MDS	TR	TG	BR	SF	OT	SH	DR	VLP	VLT	OR
Cu	Red	Red	Red	Green	Green	Red	Yellow	Red	Green	Green	Green	Green
Zn	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green
TBT	Red	Red	Red	Green	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Green
ERA (TBT)	Red	Red	Red	Green	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Grey	Grey
Irgarol	Yellow	Yellow	Yellow	Green	Yellow	Red	Red	Green	Green	Yellow	Green	Green
ERA (Irgarol)	Green	Yellow	Green	Green	Yellow	Yellow	Green	Green	Green	Green	Green	Green
Diuron	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green
ERA (Diuron)	Green	Yellow	Yellow	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green
Ecotox	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red

SEDIMENTI

	MN	MDS	TR	TG	BR	SF	OT	SH	DR	VLP	VLT
Cu	Yellow	Yellow	Green	Green	Yellow	Yellow	Green	Yellow	Yellow	Green	Green
Zn	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green
TBT	Red	Red	Red	Grey	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Grey
Diuron	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey
Irgarol	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey	Yellow	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey
Ecotox	Red	Yellow	Red	Red	Red	Yellow	Red	Yellow	Red	Yellow	Red

Legenda:

	Qualità buona , sulla base del confronto con gli standard di qualità; ERA: probabilità di eccedenza del 5° percentile <1%.
	Qualità medio-bassa , sulla base del confronto con gli standard di qualità ERA: probabilità di eccedenza del 5° percentile fra 1 e 20%.
	Qualità scadente , sulla base del confronto con gli standard di qualità. ERA: probabilità di eccedenza del 5° percentile <1%.
	Casi in cui non sono disponibili dati oppure non è possibile fare una valutazione qualitativa.

Tabella 4 - Tabelle riassuntive sulla qualità ambientale del tratto di Mar Adriatico compreso fra Puglia (Italia) ed Albania.

Dalle tabelle si evince che il rischio maggiore deriva innanzitutto dal TBT che, pur essendo stato proibito da anni, si osserva a livelli preoccupanti sia nelle acque che nei sedimenti di quasi tutte le località indagate. Inoltre, anche per il rame e l'Irgarol si registrano concentrazioni potenzialmente rischiose in alcuni porti, soprattutto pugliesi.

D'altra parte, i livelli di zinco e di Diuron sono sempre al di sotto dei rispettivi valori limite e quindi non dovrebbero recare danni alla popolazione acquatica locale.

Complessivamente, le analisi chimiche indicano SF come il porto più inquinato e bassi livelli di contaminazione delle acque albanesi da parte dei biocidi indagati, eccetto il TBT.

L'analisi di rischio, in accordo con i risultati delle analisi chimiche, indica un'elevata probabilità di effetti avversi dovuti al TBT. Inoltre, l'ERA suggerisce una possibilità, bassa ma non nulla, per l'Irgarol, di arrecare danni agli organismi acquatici proprio in quei porti in cui un confronto fra i risultati delle analisi chimiche e gli SQA aveva già evidenziato una qualità ambientale da medio-bassa (MDS) a scadente (SF e OT).

Ancora, l'analisi di rischio registra una piccola, ma non nulla, probabilità di effetti avversi, da parte del Diuron, in due porti pugliesi (MDA e TR) in cui si era verificato il superamento dello standard di qualità ambientale espresso come concentrazione media annua (SQA-AA).

Infine, le analisi ecotossicologiche, indicano un rischio medio-alto in tutte le località indagate, compresa l'area marina protetta di Torre Guaceto, diversamente da quanto atteso in base alle analisi chimiche. Questo risultato evidenzia l'importanza di un approccio multidisciplinare che consente di evidenziare situazioni critiche altrimenti difficilmente individuabili.

Quindi, sarebbe opportuno che le autorità preposte tenessero conto dei risultati dei lavori di monitoraggio, per contrastare/limitare l'impiego delle sostanze AF che risultano più pericolose per l'ecosistema marino, sia attraverso opportuni provvedimenti legislativi che mediante azioni in campo consistenti in controlli del rispetto della normativa vigente ed in interventi di risanamento.

Bibliografia

Abbott, A., Abel, P.D., Arnold, D.W. and Milne, A., 2000. "Cost-benefit analysis of the use of TBT: the case for a treatment approach", *Science of The Total Environment*, vol. 258, no. 1-2, pp. 5-19.

Alzieu, C.L., Sanjuan, J., Deltreil, J.P., Borel, M., 1986. "Tin contamination in Arcachon Bay: effects on oyster shell anomalies", *Marine Pollution Bulletin*, vol. 17, pp. 494-498,

Antizar-Ladislao, B., 2008. "Environmental levels, toxicity and human exposure to tributyltin (TBT)-contaminated marine environment: a review", *Environment International*, vol. 34, pp. 292-308.

APAT IRSA-CNR, 2003. "Metodi analitici per le acque. Manuali e Linee guida". 29/2003. Vol. Terzo. Sezione 8000: metodi ecotossicologici.

ASTM, 1994. Standard Guide for Designing Biological Tests With Sediments. ASTM E1525.: 22 pp.

Bartley, D.M. & Minchin, D., 1996. "Precautionary approach to the introduced and transfer of aquatic species", F.A.O. Fisheries Technical Paper 350/2: 159-188.

Bentivegna, C. S., Piatkowski T., 1998. "Effects of tributyltin on medaka (*Oryzias latipes*) embryos at different stages of development", *Aquatic Toxicology*, vol. 44, pp. 117-128.

Blanchard, M., 1995. "Origine et état de la population de *Crepidula fornicata* (Gastropoda: Prosobranchia) sur le littoral français", *Haliotus*, vol. 24, pp. 75-86.

Boedeker, W., Drescher, K., Altenburger, R., Faust, M., & Grimme, L. H., 1993. "Combined effect of toxicants: the need and soundness of assessment approaches in ecotoxicology", *Science of the Total Environment*, vol. 134(2), pp. 931-939.

Bowman, J.C., Readman, J.W., Zhou, J.L., 2003. "Seasonal variability in the concentrations of Irgarol 1051 in Brighton marina, UK; including the impact of dredging", *Marine Pollution Bulletin*, vol. 46, pp. 444-51.

Boxall, A.B.A., Comber, S.D., Conrad, A.U., Howcroft, J., Zaman, N., 2000. "Inputs, monitoring and fate modelling of antifouling biocides in UK estuaries", *Marine Pollution Bulletin*, vol. 40, pp. 898-905.

Brady Jr, R. F., 2000. "No more tin: what now for fouling control?", *Journal of Protective Coatings & Linings*, vol. 17, no. 6, pp. 42-46.

Bryan, G. W., Gibbs, P. E., 1991. "Impact of low concentrations of tributyltin (TBTO) on marine organisms: a review", *Metal Ecotoxicology: Concepts and Applications.*, Michigan, pp. 323-361, Eds. Newman M.C. and McIntosh A. W., Lewis Publishers.

Call, D.J., Brooke, L.T., Kent, R., J. Knuth, M.L., Poirier, S.H., Huot, J.M., Lima, A.R., 1987. "Bromacil and diuron herbicides: toxicity, uptake, and elimination in freshwater fish", *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, Vol. 16, no. 5, pp. 607-613.

Callow, M.E., 1990. "Ship fouling: Problems and solutions", *Chemistry and industry*, vol. 5, pp. 123-127.

Callow, M. E., Willingham, G. L., 1996. "Degradation of antifouling biocides", *Biofouling: The Journal of Bioadhesion and Biofilm Research*, vol. 10, pp. 239-249.

Calow, P., Forbes, V., 2003. "Does ecotoxicology inform ecological risk assessment?" *Environment Science and Technology*, vol. 37(7), pp. 146-151.

Caquet, T., Roucaute, M., Mazzella, N., Delmas, F., Madigou, C., Farcy, E., Burgeot, T., Allenou, J.-P., Gabellec, R., 2013. “Risk assessment of herbicides and booster biocides along estuarine continuums in the Bay of Vilaine area (Brittany, France)”, *Environmental Science and Pollution Research*, vol. 20, pp. 651–666.

CARB, 2008. California Ambient Air Quality Standards (CAAQS). California Air Resources Board, Sacramento, CA.

Carbery, K., Owen, R., Frickers, T., Otero E., Readman, J.W., 2006. “Contamination of Caribbean coastal waters by the antifouling herbicide Irgarol 1051”, *Marine Pollution Bulletin*, vol. 52, pp. 635–644.

Carson, R.T., Damon, M., Johnson, L.T., Gonzalez, J.A., 2009. “Conceptual issues in designing a policy to phase out metal-based antifouling paints on recreational boats in San Diego Bay”, *Journal of Environmental Management*, vol. 90, pp. 2460–2468.

Cassi R., Tolosa I., de Mora S., 2008. “A survey of antifoulants in sediments from Ports and Marinas along the French Mediterranean coast”. *Marine Pollution Bulletin*, vol. 56, pp. 1943–1948.

CDWR, 1995. Compilation of Sediment and Soil Standards, Criteria, and Guidelines. California Department of Water Resources, State of California, The Resources Agency, Sacramento, CA.

Champ, M.A., 2000. “A review of organotin regulatory strategies, pending actions, related costs and benefits”, *Science of The Total Environment*, vol. 258, pp. 21–71.

Chiavarini S., Massanisso P., Nicolai P., Nobili C., Morabito R., 2003. “Butyltins concentration levels and imposex occurrence in snails from the Sicilian coasts (Italy)”, *Chemosphere*, vol. 50, pp. 311-319.

Ciba–Geigy, 1995. Irgarol 1051 in antifouling paints. In Technical Information Bulletin. Ciba Geigy Ltd, Basel, Switzerland.

Cicero A., Nonnis O., Romano E., Finoia M., Bergamin L., Graziosi M., Balocchi C., Focardi S., 2004. Detection of TBT residues in Italian marine sediments. *Chemistry and Ecology*, vol. 20, pp. s319-s331.

Connelly, D. P., Readman, J. W., Knap, A. H., Davies, J., 2001. “Contamination of the coastal waters of Bermuda by organotins and the triazine herbicide Irgarol 1051”, *Marine Pollution Bulletin*, vol. 42, pp. 409-414.

Dafforn, K. A., Lewis, J. A., Johnston, E. L., 2011. “Antifouling strategies: History and regulation, ecological impacts and mitigation”. *Marine Pollution Bulletin*, vol. 62, pp. 453–465.

deMora, S.J., King, N.G., Miller, M.C., 1989. “Tributyltin and total tin in marine sediments: profiles and the apparent rate of TBT degradation”. *Environmental Technology Letters*, vol. 10, pp. 901–908.

DEPA, 2003. Statutory Order on Biocidal Antifouling Paint. Danish Environmental Protection Agency, Ministry of the Environment, København, Denmark.

DEPA, 2008. Fact Sheet No. 24: Anti-fouling Bottom Paint. Danish Environmental Protection Agency, Ministry of the Environment, København, Denmark.

Di Capua, E., Giacco, M., Gori, L., Masseti, E., Sbrilli, G., 2001. “Determinazione della tossicità dei sedimenti portuali con *D. tertiolecta* e *V. fischeri*”. *Biologi Italiani*, anno XXXI.

Di Landa, G., Parrella, L., Avagliano, S., Ansanelli, G., Maiello, E., Cremisini, C., 2009. “Assessment of the Potential Ecological Risks Posed by Antifouling Booster Biocides to the Marine Ecosystem of the Gulf of Napoli (Italy)”, *Water, Air, & Soil Pollution*, vol. 200, pp. 305-321.

Diez, S., Albanos, M., Bayona, M.J., 2002. "Organotin contamination in sediments from the Western Mediterranean enclosures following 10 years of TBT regulation". *Water Research*, vol. 36, pp. 905–918.

Dumbauld, B. R., Kauffman, B. E., 1998. "Nascent invasion of green crab (*Carcinus maenas*) in Washington state coastal estuaries", IN: Abstracts of technical papers presented at the 51st annual meeting of the Pacific Coast Oyster Growers Association, Newport, Oregon, September 23-25 1997, *Journal of Shellfish Research*, vol. 17, no. 4, p. 1269, Ed. Biodiversity Heritage Library.

EPA September 2011. "Background information. Reassessment of antifouling paints".

Fernández-Alba, A. R., Hernando, M. D., Piedra, L., Chisti, Y., 2002. "Toxicity evaluation of single and mixed antifouling biocides measured with acute toxicity bioassays", *Analytica Chimica Acta* vol. 456, pp. 303-312.

Ferri, T., Morabito, R., Perini, A., 1988. "Organotin determination by GFAAS", in "Heavy Metals in the Hydrological Cycle", Ed. M. Astruc and J. N. Lester, pp. 413-418, London.

Giacomazzi, S., Cochet, N., 2004. "Environmental impact of diuron transformation: a review", *Chemosphere*, vol. 56, pp. 1021–1032.

Gibbs, P.E., Bryan, G.W., 1986. "Reproductive failure in populations of the dogwhelk, *Nucella lapillus*, caused by imposex induced by the tributyltin from antifouling paints", *Journal of the Marine Biological Association UK*, vol. 66, pp. 767–777, Ed. Cambridge University Press.

Haglund, K., Pettersson, A., Peterson, M., Kylin, H., Lord, S. C., Dollenmeie, P., 2001. "Seasonal Distribution of the Antifouling Compound Irgarol 1051 Outside a Marina in the Stockholm Archipelago", *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, vol. 66, pp. 50-58, Ed. Springer New York.

Hall Jr., L. W., Giddings, J. M., Solomon, K. R., Balcomb, R. R., 1999. "An Ecological Risk Assessment for the Use of Irgarol 1051 as an Algaecide for Antifoulant Paints", *Critical Reviews in Toxicology*, 29, 367-437.

Hall, L. W., Jr., Scott, M. C., Killen, W. D., Unger, M. A., 2000. "A Probabilistic Ecological Risk Assessment of Tributyltin in Surface Waters of the Chesapeake Bay Watershed", *Human and Ecological Risk Assessment*, vol. 6, No. 1, pp. 141-179.

HC, 1994. Regulatory Directive Dir94-03: Registration of Antifouling Coatings. Health Canada, Ottawa.

Jones, R., 2005. "The ecotoxicological effects of Photosystem II herbicides on corals", *Marine Pollution Bulletin*, vol. 51, no. 5-7, pp. 495-506.

Lamoree, M. H., Swart, S. P., van der Horst A., van Hattumm B., 2002. "Determination of diuron and the antifouling paint biocide Irgarol 1051 in Dutch marinas and coastal waters", *Journal of Chromatography A*, vol. 970, pp. 183-190.

Lewis, J.A., 1998. "Marine biofouling and its prevention on underwater surfaces", *Materials Science Forum*, vol. 22, pp. 41–61.

Liu, D., Maguire, R. J., Lau, Y. L., Pacepavicius, G. J., Okamura, H., Aoyama, I., 1997. "Transformation of the new antifouling compound Irgarol 1051 by *Phanerochaete chrysosporium*", *Water Research*, vol. 31, no.9, pp. 2363-2369.

Maguire, R.J., 1987. "Environmental aspects of tributyltin", *Applied Organometallic Chemistry*, vol. 1, no. 6, pp. 475-498.

- Manzo, S., Buono, S., Cremisini, C., 2006. "Toxic effects of Irgarol and Diuron on sea urchin *Paracentrotus lividus* early development, fertilization, and offspring quality", *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, vol. 51, pp. 61–68.
- Manzo, S., Ansanelli, G., Parrella, L., Di Landa, G., Massanisso, P., Schiavo, S., Minopoli, C., Lanza, B., Boggia, R., Aleksy, P., Tabaku, A., 2014a. "First evaluation of the threat posed by antifouling biocides in the Southern Adriatic Sea", *Environmental Science: Processes & Impacts*, vol. 16, pp. 1981-1993.
- Manzo, S., Schiavo, S., Aleksy, P., Tabaku, A., 2014b. "Application of a toxicity test battery integrated index for a first screening of the ecotoxicological threat posed by ports and harbors in the southern Adriatic Sea (Italy)", *Environmental Monitoring and Assessment*, vol. 186, pp. 7127–7139.
- Massanisso, P., Ubaldi, C., Chiavarini, S., Pezza, M., Cannarsa, S., Bordone, A., 2015. Distribution of antifouling biocides in coastal seawater of Egadi Islands. *Energia, Ambiente e Innovazione (EAI-ENEA)*, vol. 4, pp. 30-36.
- Miglietta, M. L., Rametta, G., Di Francia, G., Manzo, S., Rocco, A., Carotenuto, R., De Luca Picione, F., Buono, S., 2011. "Characterization of nanoparticles in seawater for toxicity assessment towards aquatic organisms". *Sensors and Microsystem*, vol. 91, pp. 425 –429.
- Nakanishi, T., Nishikawa, J.-ichi, 2009. "Genetic Impacts of Organotin Compounds", Chapter 13, pp.221-233; T. Arai et al. (eds.) *Ecotoxicology of Antifouling Biocides*, Springer.
- NOAA, 1999 Sediment Quality Guidelines Developed for the National Status and Trends Program. National Oceanographic and Atmospheric Agency Office of Response and Restoration, Department of Commerce.
- Nödler, K., Voutsas, D., Licha, T., 2014. Polar organic micropollutants in the coastal environment of different marine systems. *Marine Pollution Bulletin*, vol. 85, pp. 50–59.
- Nyström, B., Becker-Van Slooten, K., Bérard, A., Grandjean, D., Druart, J.C., Leboulanger, C., 2002. "Toxic effects of Irgarol 1051 on phytoplankton and macrophytes in Lake Geneva", *Water Research*, vol. 36, pp. 2020–2028.
- Okamura, H., Aoyama, I., Liu, D., Maguire, J., Pacepavicius, G. J., Lau, Y. L., 1999. "Photodegradation of Irgarol 1051 in water", *Journal of Environmental Science and Health. Part. B, Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes*, vol. 34, pp. 225–238.
- Okamura, H., Aoyama, I., Liu, D., Maguire, R.J., Pacepavicius, G. J., Lau, Y. L., 2000a. "Fate and ecotoxicity of the new antifouling compound Irgarol 1051 in the aquatic environment", *Water Research*, vol. 34, pp. 3523-3530.
- Okamura, H., Aoyama, I., Takami, T., Maruyama, T., Suzuki, Y., Matsumoto, M., Katsuyama, I., Hamada, J., Beppu, T., Tanaka, O., Maguire, R.J., Liu, D., Lau, Y.L., Pacepavicius, G.J., 2000b. "Phytotoxicity of the new antifouling compound Irgarol 1051 and a major degradation product", *Marine Pollution Bulletin*, vol. 40, no. 9, pp. 754-763.
- Okamura, H., Watanabe, T., Aoyama, I., Hasobe, M., 2002. "Toxicity evaluation of new antifouling compounds using suspension-cultured fish cells", *Chemosphere*, vol.46, pp. 945–51.
- Omae, I., 2003. "Organotin antifouling paints and their alternatives. Review". *Applied Organometallic Chemistry*, vol. 17, pp. 81-105.

Prato, E., Parlapiano, I., Biandolino, F., 2012. "Evaluation of a bioassays battery for ecotoxicological screening of marine sediments from Ionian Sea (Mediterranean Sea, Southern Italy)". *Environmental Monitoring Assessment*, vol. 184, pp. 5225 – 5238.

Rascio, V.J.D., 2000. "Antifouling Coatings: Where do we go from here?", *Corrosion Reviews*, vol. 18 (2-3), pp.133-154.

Rilov, G., Benayahu, Y., Gasith, A., 2001. "Low abundance and skewed population structure of the whelk *Stramonita haemastoma* along the Israeli Mediterranean coast", *Marine Ecology Progress Series*, vol. 218, pp. 189–202.

Rogers, H.R., Watts, C.D. Johnson, I., 1996. "Comparative predictions of Irgarol 1051 and atrazine fate and toxicity", *Environmental Technology*, vol. 17, pp. 553-557.

Sánchez-Rodríguez, Á., Ferrera, Z. S., Santana Rodríguez, J. J., 2011. "An evaluation of antifouling booster biocides in Gran Canaria coastal waters using SPE-LC MS/MS", *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, vol. 91, no. 12, pp. 1166–1177

Thomas, K. V., Fileman, T. W., Readman, J. W., Waldock M. J., 2001. "Antifouling paint booster biocides in the UK coastal environment and potential risk of biological effects", *Marine Pollution Bulletin*, vol. 42, pp. 677-688.

Thomas, K.V., McHugh, M., Waldock, M., 2002. "Antifouling paint booster biocides in UK coastal waters: inputs, occurrence and environmental fate", *Science of the Total Environment*, vol. 293, no. 1–3, pp. 117–127.

Thomas, K.V., McHugh, M., Hilton, M., Waldock, M., 2003. "Increased persistence of antifouling paint biocides when associated with paint particles", *Environmental Pollution*, vol. 123, no. 1, pp. 153-161.

Terlizzi, A., Delos, A., Garaventa, F., Faimali, M., Geraci, S., 2004. Limited effectiveness of marine protected areas: imposex in *Hexaplex trunculus* (Gastropoda, Muricidae) populations from Italian marine reserves. *Marine Pollution Bulletin*, vol. 48, pp. 164-192.

Tolosa, I., Readman, J. W., Blaevoet, A., Ghilini, S., Bartocci, J., Horvat, M., 1996. "Contamination of Mediterranean (Côte d'Azur) coastal waters by organotin and Irgarol 1051 used in antifouling paints", *Marine Pollution Bulletin*, vol. 32, pp. 335-341.

UNI EN ISO 10253:2006, "Water quality -- Marine algal growth inhibition test with *Skeletonema costatum* and *Phaeodactylum tricornutum*".

US EPA, 1998. "Guidelines for ecological risk assessment", EPA/630/R-95/002F, Washington DC.

van Wezel, A.P., van Vlaardingen, P., 2004. "Environmental risk limits for antifouling substances", *Aquatic Toxicology*, vol. 66, pp. 427-444.

Voulvoulis, N., Scrimshaw, M.D., Lester, J.N., 1999. "Review: alternative antifouling biocides", *Applied Organometallic Chemistry*, vol. 13, pp. 135–143.

Weidenhaupt, A., Arnold, C., Müller, S.R., Haderlein, S.B., Schwarzenbach, R. P., 1997. "Sorption of organotin biocides to mineral surfaces", *Environmental Science & Technology*, vol. 31, no. 9, pp. 2603-2609.

WHOI, 1952. Vedit Woods Hole Oceanographic Institution

Willie, S.N., Iidaand, Y Mc Laren, J.W , 1998. "Determination of Cu, Ni, Zn, Mn, Co, Pb, Cd and V in seawater Using Flow Injection ICP-MS", *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, vol.19, pp. 67-72.

Woods Hole Oceanographic Istitution (**WHOI**), 1952. US Naval Institute, Annapolis, Iselin, COD.

Ytreberg E., Karlsson J., Eklund B., 2010. "Comparison of toxicity and release rates of Cu and Zn from anti-fouling paints leached in natural and artificial brackish seawater", *Science of the Total Environment*, vol. 408, no. 12, pp. 2459-66. doi: 10.1016/j.scitotenv.2010.02.036.

APPENDICE A

Foto dei siti campionati

I segnaposto colorati indicano i punti di campionamento vicino alla banchina (ban.) e al centro del porto (c.p.).

MANFREDONIA (MN) - PUGLIA



MARGHERITA DI SAVOIA (MDS) - PUGLIA



TRANI (TR) - PUGLIA



TORRE GUACETO (TG) - PUGLIA



BRINDISI (BR) – PUGLIA



SAN FOCA DI MELENDUGNO (SF) - PUGLIA



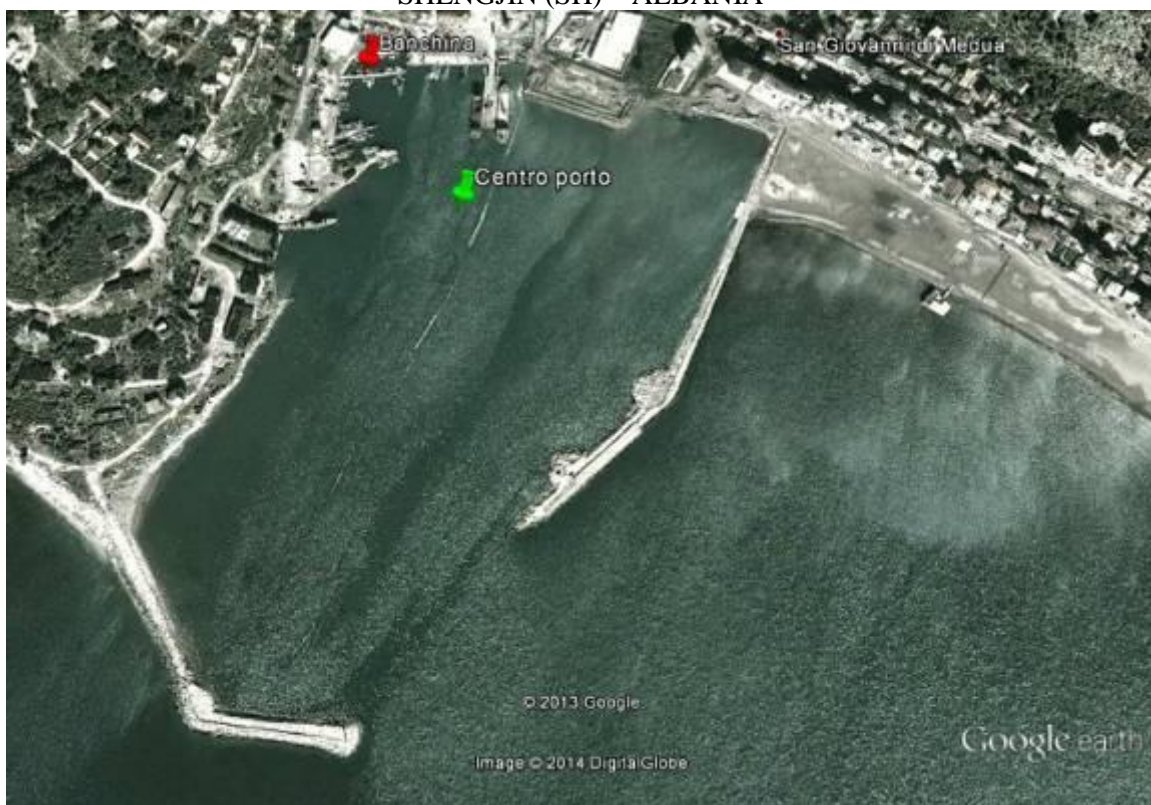
OTRANTO (OT) -PUGLIA



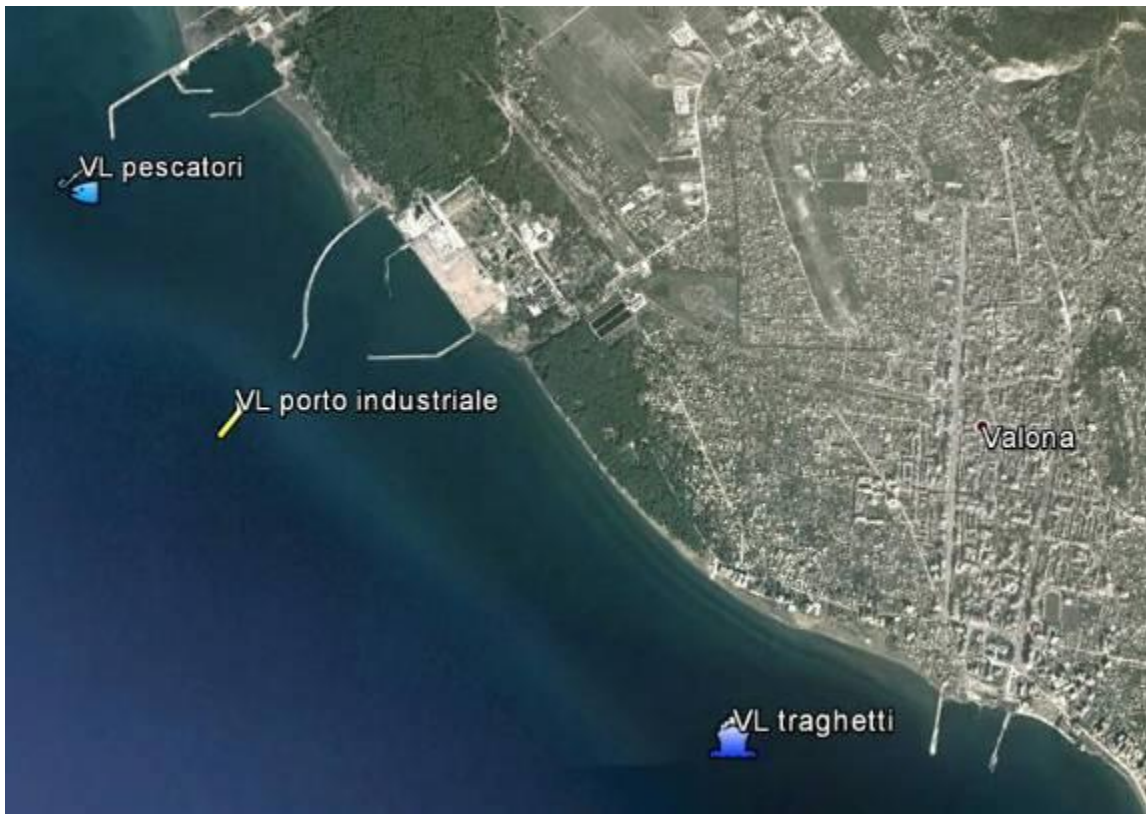
DURAZZO (ALBANIA)



SHENGJIN (SH) – ALBANIA



VALONA - ALBANIA



VALONA TRAGHETTI (VLT) – ALBANIA



VALONA PESCATORI (VLP) – ALBANIA



ORIKUM (OR) – ALBANIA



ENEA
Servizio Promozione e Comunicazione
www.enea.it

Stampa: Laboratorio Tecnografico ENEA - C.R. Frascati
maggio 2017