

**AREA DEL FLUMENTEPIDO
(SARDEGNA):
APPROCCIO INTEGRATO
CHIMICO ED ECOTOSSICOLOGICO
PER LA VALUTAZIONE
DEI SEDIMENTI**

AREA DEL FLUMENTEPIDO (SARDEGNA): APPROCCIO INTEGRATO CHIMICO ED ECOTOSSICOLOGICO PER LA VALUTAZIONE DEI SEDIMENTI

Informazioni legali

L'Istituto Superiore per la Protezione e la Ricerca Ambientale (ISPRA), insieme alle 21 Agenzie Regionali (ARPA) e Provinciali (APPA) per la protezione dell'ambiente, a partire dal 14 gennaio 2017 fa parte del Sistema Nazionale a rete per la Protezione dell'Ambiente (SNPA), istituito con la Legge 28 giugno 2016, n.132.

Le persone che agiscono per conto dell'Istituto non sono responsabili per l'uso che può essere fatto delle informazioni contenute in questo quaderno.

ISPRA - Istituto Superiore per la Protezione e la Ricerca Ambientale
Via Vitaliano Brancati, 48 – 00144 Roma
www.isprambiente.gov.it

ISPRA, Quaderni – Laboratorio 3/2019
ISBN 978-88-448-0888-4

Riproduzione autorizzata citando la fonte

Elaborazione grafica

ISPRA – Area Comunicazione

Grafica di copertina: Franco Iozzoli

Foto di copertina: Maurizio Guerra

Coordinamento pubblicazione on line:

Daria Mazzella

ISPRA – Area Comunicazione

DICEMBRE 2019

Autori

Nicoletta CALACE (ISPRA, COS-ODC),

Fulvio ONORATI (ISPRA LAB-ECO),

Maurizio GUERRA (ISPRA GEO-PSC),

Eugenia BARTOLUCCI (ISPRA GEO-PSC),

Flavia SACCOMANDI (ISPRA COS-ODC),

Gianfranco MULAS (Comune di Portoscuso)

INDICE

PREMESSA	7
1. STATO DELL'ARTE	8
1.1 - Metodi chimici	8
1.2 - Metodi basati su test di tossicità	9
1.3 - Metodi empirici basati sulle indagini di campo	10
2. CRITERI METODOLOGICI PER LA CARATTERIZZAZIONE DEI SEDIMENTI	11
2.1 - Ambiente fluviale: raccolta e analisi dei dati esistenti (caratteristiche principali del bacino idrografico e idrodinamica del corso d'acqua)	11
2.2 - Ambiente fluviale: ubicazione e densità di campionamento	12
2.3 - Ambiente lacustre: raccolta e analisi dei dati esistenti (caratteristiche principali del bacino idrologico e morfologia dei fondali)	13
2.4 - Ambito lacustre: ubicazione e densità di campionamento	14
2.5 - Modalità di campionamento	14
2.6 - Set Analitico e metodi	15
3. DERIVAZIONE DEI LIVELLI CHIMICI DI RIFERIMENTO	18
3.1 - Indice integrato per batterie di test ecotossicologici	18
3.2 - Derivazione dei livelli chimici di pericolo ecotossicologico	23
3.3 - Opzioni gestionali	24
4. CASO STUDIO "AREA DEL BOI CERBUS"	26
4.1 - Inquadramento territoriale	26
4.2 - Campionamento e analisi	26
4.3 - Risultati	27
5. CONCLUSIONI	37

6. BIBLIOGRAFIA	38
APPENDICE 1 - PARAMETRI PER IL CALCOLO DEL TBI	41
APPENDICE 2 - CAMPIONATORI PASSIVI	44
I campionatori passivi	44
I campionatori passivi per l'analisi dei metalli	45
I campionatori passivi per l'analisi delle sostanze organiche non polari	48
I campionatori passivi per l'analisi delle sostanze organiche polari (POCIS)	50
Bibliografia	51

PREMESSA

Il DLgs.152/06 e ss.mm.ii. Allegato 1 alla parte terza introduce standard di qualità per le acque superficiali interne e marino-lagunari, per i sedimenti dei corpi idrici marino-costieri e di transizione limitatamente ad alcuni contaminanti ritenuti significativi per la definizione del buono stato chimico.

Diversamente non sono stati individuati riferimenti normativi nazionali per i sedimenti delle acque interne, sebbene il tema sia stato ampiamente affrontato a livello internazionale. Questa lacuna normativa si riflette inevitabilmente sul piano gestionale con l'estrema difficoltà di regolamentare interventi di risanamento ambientale per queste matrici.

La gestione ambientale connessa ai sedimenti delle acque interne dovrebbe contemplare un'analisi del rischio ecologico che permetterebbe di superare l'approccio tabellare vincolato al superamento anche lieve di un'unica sostanza, rispetto a eventuali riferimenti stabiliti esclusivamente su base chimica. In tal senso, importanti progressi legislativi sono stati effettuati per l'ambiente marino con il DM 15 luglio 2016 n. 173 e con il DD 8 giugno 2016, che recepiscono alcuni recenti progressi scientifici basati su criteri di integrazione ponderata delle caratteristiche chimiche ed ecotossicologiche dei sedimenti.

Lo sviluppo di un approccio analogo per i sedimenti lacustri e fluviali potrebbe pertanto rappresentare una soluzione percorribile, seppur con la consapevolezza dei limiti e delle esigenze di adattamento sito specifico per gli ecosistemi dulciacquicoli. Questi ecosistemi, infatti, sono soggetti ad una maggiore variabilità e dotati di caratteristiche idrografiche e biologiche più eterogenee rispetto agli ambienti marini e salmastri.

Il presente quaderno descrive una prima proposta metodologica per la valutazione del livello di pericolo ecotossicologico ascrivibile alla matrice sedimenti acque interne. Esso descrive, inoltre, un caso studio condotto presso il sistema idrografico afferente alla Laguna del Boi Cerbus (Portoscuso, Sardegna sud-occidentale). Pur tenendo conto dei limiti legati alla numerosità campionaria si ritiene possibile considerare tale caso come propedeutico ad un approccio ponderato chimico-ecotossicologico per la valutazione del potenziale pericolo ecologico in ambienti dulciacquicoli.

1. STATO DELL'ARTE

Per la definizione di standard ambientali relativi alla matrice sedimento delle acque interne sono stati proposti numerosi approcci scientifici (ISPRA, Rapporto 154/2011).

Uno degli approcci più speditivi è rappresentato dalla definizione dei Livelli Chimici di Riferimento (LCR) non sito specifici (APAT, 2009), che, in analogia alle CSC (Concentrazioni Soglia di Contaminazione) per i suoli definite nella normativa vigente (DLgs. 152/06 e ss.mm.ii.), possono evidenziare i tratti dell'asta fluviale o le aree di un bacino lacustre che necessitano di specifiche indagini finalizzate alla definizione della eco-compatibilità dei sedimenti e, conseguentemente, di tratti o aree da sottoporre a qualche forma di intervento.

Nella letteratura internazionale il dibattito circa i criteri da adottare per definire i *Sediment Quality Benchmarks* (SQB) è ancora aperto e in rapida evoluzione; nel corso degli anni, infatti, sono stati proposti metodi chimici, metodi basati su test di tossicità e metodi empirici basati su indagini di campo (Ingersoll et al., 2001; Battelle, 2002; USEPA, 2004; Wennigen et al., 2005; Burgess et al., 2012; Di Toro, 2013; Huo et al., 2013; Kwok et al. 2014; Roig et al., 2015; Nowell et al., 2016; Burton et al., 2017).

1.1 - Metodi chimici

1a. Misura diretta delle concentrazioni di contaminante nell'acqua interstiziale

Le concentrazioni dei contaminanti presenti nell'acqua interstiziale sono comparate ai valori limiti delle acque superficiali; in questo modo non si definisce propriamente un SQB, ma si fa riferimento agli standard delle acque superficiali (*Water Quality Benchmarks*);

1b. Stima delle concentrazioni nei sedimenti mediante il modello dell'equilibrio di ripartizione (EqP)

La concentrazione ammissibile di un contaminante nel sedimento è assunta pari a quella che, in base all'equilibrio di ripartizione con l'acqua, determina concentrazioni minori dei limiti per le acque superficiali.

In sostanza, noto il coefficiente di ripartizione K_p (litri/kg di sedimento) si ha:

$$SQB = K_p * WQB$$

Per i composti organici il coefficiente di ripartizione K_p può essere espresso come il prodotto fra il coefficiente di ripartizione sul carbonio organico (K_{oc}) e la frazione di carbonio organico (f_{oc}) espressa in g di carbonio organico/g di sedimento secco:

$$K_p = K_{oc} * f_{oc}$$

Questo approccio richiede che siano rispettate diverse condizioni che ne costituiscono al tempo stesso anche i limiti:

- i) la ripartizione dei composti organici fra la sostanza organica e l'acqua sia stabile e all'equilibrio;
- ii) la sensibilità ai composti organici delle specie bentoniche siano simili a quelle degli organismi utilizzati per ottenere i WQB.

Inoltre, questo metodo è applicabile solo quando f_{oc} è maggiore dello 0,2% (EPA 1993). In caso contrario, infatti, altri parametri (dimensione delle particelle, adsorbimento sulle frazioni minerali non organiche) diventano variabili importanti in grado di condizionare la ripartizione.

Per i metalli questo approccio è sostanzialmente controindicato in quanto, a differenza dei composti organici per i quali la ripartizione fra le fasi solido/liquido è legata al parametro f_{oc} (attraverso il coefficiente K_{oc}), per i metalli la ripartizione solido/liquido è controllata da numerosi fattori (adsorbimento superficiale, presenza di carbonati, ossidi e idrossidi di ferro e manganese, solfuri, ecc.), difficilmente quantificabili (Simpson e Batley, 2016).

1.2 - Metodi basati su test di tossicità

1.2a. Test di tossicità sul sedimento tal quale

Gli organismi di riferimento sono esposti ai sedimenti prelevati in campo o a campioni non contaminati arricchiti in laboratorio con concentrazioni note dei contaminanti presi in esame (*spiked sediments*). La misura degli *end-point* di laboratorio evidenzia gli effetti indotti negli organismi, determinando le eventuali relazioni dose/effetto.

1.2b. Test di tossicità sull'acqua interstiziale

Gli organismi di riferimento sono esposti a campioni di acqua interstiziale estratta dal sedimento con procedure più o meno standardizzate.

1.3 - Metodi empirici basati sulle indagini di campo

1.3a. Concentrazione al livello di screening (SLC)

La concentrazione più elevata di un particolare contaminante nel sedimento che può essere tollerata dal 95% degli organismi bentonici.

1.3b. Soglie dell'effetto visibile

Gli effetti biologici sono valutati sia attraverso l'analisi delle comunità bentoniche, sia attraverso i test di tossicità sui sedimenti. La soglia è definita come la concentrazione di un contaminante nel sedimento oltre la quale si registrano effetti biologici statisticamente significativi. Questa concentrazione è identificata come la concentrazione di non effetto (*NEC, No Effect Concentration e/o NOEC, No Observed Effect Concentration*) (Ferard e Blaise, 2013).

In base allo stato dell'arte e alle esperienze acquisite nel corso degli anni da ISPRA (APAT, 2009), si ritiene che l'approccio semplificato più idoneo sia quello di applicare una procedura sito specifica integrata che coinvolga analisi chimiche ed ecotossicologiche. Tale procedura non può essere utilizzata al fine di definire degli standard di qualità ambientali, ma permette di derivare dei livelli chimici di pericolo ecotossicologico utili per la gestione di problematiche ambientali, quali la contaminazione chimica dei sedimenti delle acque interne.

2. CRITERI METODOLOGICI PER LA CARATTERIZZAZIONE DEI SEDIMENTI

Nel presente quaderno lo stato qualitativo dei sedimenti è valutato mediante un approccio integrato chimico-ecotossicologico.

Di seguito vengono riportati i criteri e le specifiche che regolano le singole fasi operative di tale approccio:

1. raccolta e analisi dei dati esistenti relativamente alle caratteristiche principali del bacino idrografico e all'idrodinamica del corso d'acqua;
2. prelievo dei campioni di sedimento nell'area di interesse soggetta a potenziale impatto;
3. prelievo dei campioni di sedimento in un'area di riferimento caratterizzata dalla relativa assenza di attività antropiche incidenti, afferente allo stesso bacino idrografico e con simili caratteristiche geochimiche ed idrologiche (monte idrogeologico rispetto a potenziali fonti antropiche insistenti nel bacino idrografico e/o corpo idrico). In assenza di un'area con simili caratteristiche è possibile, in via subordinata, prelevare campioni profondi (ad esempio mediante tecniche di carotaggio) la cui assenza di tossicità sia accertata da utilizzare come riferimento;
4. classificazione dei campioni analizzati in funzione della risposta dei saggi ecotossicologici;
5. calcolo dei livelli chimici di pericolo ecotossicologico;
6. derivazione dello stato qualitativo dei sedimenti dell'area oggetto di studio;
7. indicazioni su eventuali interventi da effettuare in funzione dello stato qualitativo dei sedimenti.

Al fine di ottenere una numerosità di dati sufficiente alle elaborazioni statistiche previste dalla metodologia proposta, il numero di campioni non potrà essere inferiore a 10. Nel caso in cui le caratteristiche morfologiche e/o ambientali non consentano l'analisi del numero minimo di campioni, la metodologia dovrà essere considerata inapplicabile ai fini della definizione del pericolo ecotossicologico.

2.1 - Ambiente fluviale: raccolta e analisi dei dati esistenti (caratteristiche principali del bacino idrografico e idrodinamica del corso d'acqua)

Le caratteristiche morfometriche del bacino idrografico ed in particolare la delimitazione, la composizione del reticolo idrografico (es. gerarchizzazione secondo Horton-Stralher), l'identificazione delle aree di alimentazione dei

segmenti del corso d'acqua in esame, le curve ipsografiche e la valutazione del grado di evoluzione del bacino costituiscono le informazioni preliminari per l'applicazione del metodo.

Parallelamente, occorre acquisire tutti gli elementi cartografici inerenti il corso d'acqua (carte corografiche, sezioni trasversali, profili longitudinali) e la sua dinamica (regime delle portate, eventi di piena), nonché l'identificazione delle aree in erosione e delle aree di deposizione.

Infine, dovranno essere acquisite informazioni relative alle attività antropiche che insistono, o hanno insistito nel passato sul bacino (studio delle pressioni), con particolare riferimento alle attività produttive che hanno un impatto sul bacino fluviale (es. scarichi, utilizzo idrico, ecc.).

2.2 - Ambiente fluviale: ubicazione e densità di campionamento

In generale, la distribuzione spaziale dei contaminanti in ambiente acquatico è fortemente condizionata dalla distribuzione delle caratteristiche fisiche dei sedimenti; è noto, infatti, che i contaminanti tendono a essere per la maggior parte associati alla frazione fine di sedimento (<0,063 mm), costituita principalmente da argille/limi e da sostanza organica. La frazione fine di sedimento tende ad accumularsi nelle zone a bassa-energia, ovvero in bacini e in aree profonde, mentre la frazione grossolana e le sabbie tendono a depositarsi in aree caratterizzate da acque a rapido scorrimento o soggette a particolari processi idrodinamici, quali i moti turbolenti, ecc.

Poiché la conoscenza del contesto idrodinamico e sedimentario è fondamentale per la scelta dei siti di campionamento, è necessario acquisire informazioni relative a:

1. le condizioni idrodinamiche (correnti, regime idrico, velocità di flusso);
2. la dinamica dei processi di formazione dei sedimenti e la sua variabilità stagionale;
3. la presenza di zone di erosione del sedimento e il tasso di deposizione.

Alcune indicazioni (non esaustive) su cui basare la strategia di campionamento sono riportate nelle Tabelle 2.1 e 2.2.

Tabella 2.1 - Relazione fra caratteristiche del corso d'acqua e criteri di campionamento.

Fattore	Campionamento
Dinamica del sedimento	Identificare zone di erosione, trasporto e accumulo del sedimento, definite sulla base dei processi idrodinamici, morfologia dei fondali, distribuzione della vegetazione acquatica di fondo, ecc.
Dimensioni del tratto d'alveo in esame	Il numero di campioni minimo in funzione della lunghezza e della larghezza del corso d'acqua è dettagliato in Tabella 2.2
Caratteristiche morfologiche del corso d'acqua (presenza di canali, anse, bacini, ecc).	Privilegiare il campionamento nelle aree prossime ad immissari, e di massimo accumulo (es. sponda interna)
Fonti antropogeniche	Il campionamento deve comprendere prelievi a monte e a valle dell' input antropogenico.

Il numero di stazioni da campionare sarà funzione della lunghezza e della larghezza dell'alveo in esame (Tabella 2.2). Per corsi d'acqua con larghezza d'alveo maggiore di 5 e 10 m si suggerisce la realizzazione di sezioni trasversali costituite rispettivamente da 2 e 3 stazioni di campionamento.

Tabella 2.2 - Numero di stazioni di campionamento in funzione della lunghezza (km) e della larghezza (m) del tratto d'alveo da indagare.

lunghezza tratto da indagare [L]	[L] <10 km	10 km <[L]<50 km	[L] >50 km
Numero di stazioni lungo il tratto d'alveo (NC)	NC = L (minimo 10)	NC = 10 + 0,5 (L-10)	NC = 30 +0,25 (L-50)
larghezza tratto da indagare [S]	[S] < 5 m	5 m <[S]<10 m	[S] >10 m
Numero di stazioni per sezioni trasversali	1	2	3

2.3 - Ambiente lacustre: raccolta e analisi dei dati esistenti (caratteristiche principali del bacino idrologico e morfologia dei fondali)

La finalità di questa fase di studio è la definizione delle caratteristiche morfometriche e idrologiche della conca lacustre: esse devono comprendere la planimetria, la batimetria, l'identificazione della linea di costa e delle aree di alimentazione del lago e/o invaso. Tali informazioni sono fondamentali per valutare tra l'altro lunghezza, larghezza e profondità

del bacino lacustre. In particolare, la profondità dei laghi naturali è rappresentata dalla distanza massima tra la quota del punto più depresso della conca lacustre e la quota media della superficie dello specchio d'acqua; per gli invasi si considera la distanza tra la quota del punto più depresso della conca lacustre e la quota della superficie dello specchio d'acqua alla massima regolazione (Piani di gestione dei bacini idrografici, Relazione Generale – Allegato - Metodologia per l'identificazione dei corpi idrici).

Dovranno essere acquisite informazioni sulle attività antropiche che insistono sul bacino (studio delle pressioni), con particolare riferimento alle informazioni riguardanti le attività produttive che direttamente sfruttano la presenza della conca lacustre (es. scarichi, utilizzo idrico, ecc.).

2.4 - Ambito lacustre: ubicazione e densità di campionamento

Analogamente ai corsi d'acqua, la distribuzione spaziale dei contaminanti in ambiente lacustre è fortemente condizionata dalle caratteristiche fisiche dei sedimenti. La frazione fine di sedimento (<0,063 mm) tende ad essere accumulata nelle zone a bassa-energia, ovvero in aree profonde, mentre la frazione grossolana e le sabbie tendono a depositarsi in aree caratterizzate da acque soggette a moti turbolenti, ecc.

Nelle conche lacustri il campionamento dei sedimenti (con un numero di stazioni non inferiore a 10, al fine di rendere statisticamente trattabili i risultati ottenuti) deve essere effettuato lungo la dimensione massima e minima del bacino idrico, con una frequenza spaziale di almeno 150 m, posizionando almeno una stazione nel punto di massima profondità. La rappresentatività di quest'ultima negli invasi, invece, deve essere attentamente valutata, mentre devono essere considerati i punti influenzati dalle opere di prelievo e/o di immissione idraulica. Nel caso in cui il lago/invaso presenti una conformazione tale da determinare la suddivisione in sottobacini con caratteristiche idrologiche, idrodinamiche e trofiche differenti, sarà necessario prevedere almeno una stazione di campionamento per ogni sottobacino individuato.

2.5 - Modalità di campionamento

Il campionamento dei sedimenti superficiali può essere effettuato con benna, con box corer o manualmente mediante liner con caratteristiche idonee a prelevare uno spessore di almeno 10 cm (generalmente 0-10 cm) (Simpson e Batley, 2016).

Il campionamento dei sedimenti profondi può essere effettuato mediante l'utilizzo di un carotiere, anche manuale, fino alla profondità ritenuta più idonea ad essere investigata. Ciascun campione deve essere

omogeneizzato e quindi conservato in appositi contenitori, con modalità idonee alle tipologie di analisi da effettuare, etichettati e datati.

Per ogni stazione di campionamento deve essere compilata una scheda che riporti i dati inerenti il punto di prelievo (nome della stazione, profondità di prelievo, data e ora, coordinate effettive, strumentazione utilizzata, profondità del fondale, ecc.), il numero e la sigla delle aliquote di campione prelevate ed infine la descrizione macroscopica del campione (caratteristiche fisiche, colore, ecc.).

Ciascun campione prelevato dovrà essere suddiviso in aliquote in base alle analisi richieste dal piano di indagine e alla dislocazione delle strutture laboratoriali coinvolte.

2.6 - Set Analitico e metodi

2.6.1 - Analisi chimiche e chimico-fisiche

Il set analitico da ricercare comprende non solo le sostanze di cui è presunta la contaminazione, ma anche i parametri necessari alla caratterizzazione chimico fisica di base, quali pH, carbonio organico totale (TOC), granulometria, contenuto in acqua e conducibilità elettrica.

I metodi analitici da utilizzare devono essere metodi standardizzati a livello nazionale o a livello internazionale e validati in accordo con la norma UNI/ISO/EN 17025; in assenza di metodiche standardizzate si dovrà comunque assicurare l'utilizzo delle migliori tecniche disponibili a costi sostenibili. I metodi utilizzati, inoltre, dovrebbero assicurare un'incertezza di misura inferiore al 50% ($k=2$) rispetto alla concentrazione minima misurabile dell'analita ricercato, ovvero rispetto al limite di quantificazione (LOQ) ottenibile con le migliori prestazioni disponibili.

Le analisi devono essere effettuate sul sedimento passante a 2 mm e i risultati riferiti al suo peso secco. Per la determinazione della distribuzione granulometrica si consiglia di adottare la scala di Shepard (1954), individuando le classi riportate in Tabella 2.3.

Tabella 2.3 - Classi granulometriche adottate per la matrice sedimenti.

Classe granulometrica
ghiaia > 2 mm
0,063 < sabbia < 2 mm
pelite (limo+argilla) < 0,063 mm

2.6.2 - Saggi ecotossicologici

Le indagini ecotossicologiche devono includere almeno tre organismi da selezionare nell'ambito delle specie-test per le quali siano disponibili protocolli standardizzati, o comunque riconosciuti da enti nazionali e/o internazionali quali ISO, ASTM, ISPRA,, IRSA-CNR, AFNOR, DIN, ecc.

E' auspicabile altresì, che tali organismi appartengano ecologicamente a livelli trofici diversi e a *taxa* filogeneticamente distanti, al fine di costruire una batteria di saggi biologici relativamente rappresentativa dell'ecosistema di studio. In via prioritaria si raccomanda l'utilizzo di organismi indicatori quali batteri, crostacei, molluschi, anellidi ed alghe.

I criteri per la scelta di una batteria di saggi ecotossicologici sono descritti nel Manuale ISPRA 88/2013. In particolare in Tabella 2.4 vengono riportati i principali saggi biologici utilizzabili per la valutazione del pericolo ecotossicologico dei sedimenti delle acque interne.

Tabella 2.4 - Elenco dei più comuni saggi biologici utilizzabili in batteria per la valutazione del pericolo ecotossicologico dei sedimenti di acque interne.

Organismo	Durata test	Endpoint
<i>Salmonella typhimurium</i> (Test di Ames)	48 -72 h	Citotossicità, mutagenicità, genotossicità
<i>Salmonella typhimurium</i> (umu-test)	4 h	Genotossicità
<i>Arthrobacter globiformis</i>	6 h	Inibizione deidrogenasi
<i>Vibrio fischeri</i>	5, 15, 30 min.	Inibizione bioluminescenza
<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	72 h	Inibizione crescita
<i>Ulva pertusa</i>	96 h	Inibizione riproduzione
<i>Lemna minor</i>	168 h	Inibizione crescita
<i>Myriophyllum aquaticum</i>	10 d	Inibizione crescita
<i>Sorghum saccharatum</i>	72 h	Germinazione/allungamento radicale
<i>Lepidium sativum</i>	72 h	Germinazione/allungamento radicale
<i>Sinapis alba</i>	72 h	Germinazione/allungamento radicale
<i>Vicia faba</i>	10 (14) d	Mutagenicità, genotossicità
<i>Brachionus calyciflorus</i>	48 h	Immobilizzazione/mortalità
<i>Daphnia magna</i>	24/48 h, 21 d	Immobilizzazione, riproduzione
<i>Ceriodaphnia dubia</i>	48 h - 7 d	Riproduzione, immobilizzazione/mortalità

Organismo	Durata test	Endpoint
<i>Heterocypris incongruens</i>	6 d	Mortalità, riproduzione
<i>Thamnocephalus platyrus</i>	24 h	Mortalità
<i>Caenorhabditis elegans</i>	96 h	Mortalità, crescita, fertilità, riproduzione
<i>Lumbriculus variegatus</i>	28 d	Mortalità, riproduzione
<i>Danio rerio</i> (adulti)	24, 48, 72, 96 h	Mortalità
<i>Danio rerio</i> (uova)	10 (14) d	Schiusa uova, sopravvivenza
<i>Danio rerio</i> (embrioni)	48 h	Mortalità
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	14 d, 28 d	Crescita
<i>Cyprinus carpio</i>	14 d, 28 d	Crescita

Per ciascun test devono essere effettuate almeno tre repliche, al fine di poter valutare in maniera rigorosa la rappresentatività statistica del campione rispetto al controllo.

Le informazioni sufficienti per un'applicazione ottimale dell'indice di batteria ecotossicologica (paragrafo 3.1) consistono negli effetti (misurati in più repliche) prodotti sull'organismo alla massima concentrazione compatibile con il protocollo adottato. Ciò consente al tempo stesso di semplificare l'allestimento del saggio, evitando una complessa scansione delle diluizioni per l'individuazione della EC50 e/o della EC20.

Qualora per esigenze di conformità a normative o a protocolli debba essere ricercata una EC_x, è possibile risalire a E% mediante semplici proporzioni, assumendo tuttavia che la relazione dose/effetto sia lineare e che i limiti fiduciali al 95% possano approssimativamente corrispondere a ± 2 dev.std. A tal fine è fortemente consigliabile utilizzare una scala logaritmica della funzione dose-effetto.

3. DERIVAZIONE DEI LIVELLI CHIMICI DI RIFERIMENTO

3.1 - Indice integrato per batterie di test ecotossicologici

Diversi autori (ISPRA Manuale 88/2013; Piva et al., 2011; Manzo et al., 2008; Liou et al., 2004; Reynoldson et al., 2002; Phillips et al. 2001; Hunt et al. 2001) utilizzano indici integrati di tossicità, ovvero indici in grado di integrare le risposte di ciascun test ecotossicologico, ai fini della valutazione della qualità dei sedimenti.

Nel presente quaderno, sulla scorta dell'esperienza ISPRA nel settore, viene proposta una procedura di calcolo relativamente semplificata per la valutazione del potenziale pericolo ecotossicologico dei sedimenti delle acque interne. L'indice è derivato da una formulazione di partenza sviluppata da Manzo e collaboratori (2008), successivamente implementato nelle linee guida ISPRA 88/2013 ed ulteriormente rielaborato.

Nella Tabella 3.1 sono riportate le principali caratteristiche dei saggi biologici in termini di misura dell'endpoint e tipologia della matrice testata.

Tabella 3.1 - Caratteristiche principali dei saggi biologici utilizzabili nella caratterizzazione ecotossicologica dei sedimenti fluviali e/o lacustri.

Organismo	Endpoint	Matrice ambientale compatibile
<i>Salmonella typhimurium</i> (Test di Ames)	Mutagenicità, genotossicità	estratto
<i>Salmonella typhimurium</i> (umu-test)	Genotossicità	elutriato
<i>Arthrobacter globiformis</i>	Inibizione enzimatica (deidrogenasi)	elutriato/sedimento tal quale
<i>Vibrio fischeri</i>	Inibizione bioluminescenza	elutriato/sedimento tal quale/acqua interstiziale/sedimento umido*
<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	Inibizione della crescita	elutriato/acqua interstiziale
<i>Ulva pertusa</i>	Inibizione riproduzione	elutriato/acqua interstiziale
<i>Lemna minor</i>	Inibizione della crescita	elutriato/acqua interstiziale
<i>Myriophyllum aquaticum</i>	Inibizione della crescita	sedimento tal quale
<i>Sorghum saccharatum</i>	Germinazione/	sedimento tal quale

Organismo	Endpoint	Matrice ambientale compatibile
	allungamento radicale	
<i>Lepidium sativum</i>	Germinazione/ allungamento radicale	sedimento tal quale
<i>Sinapis alba</i>	Germinazione/ allungamento radicale	sedimento tal quale
<i>Vicia faba</i>	Mutagenicità, genotossicità	sedimento tal quale
<i>Brachionus calyciflorus</i>	Inibizione della crescita	elutriato/acqua interstiziale
<i>Daphnia magna</i>	Immobilizzazione	elutriato/acqua interstiziale
<i>Ceriodaphnia dubia</i>	Riproduzione, mortalità	elutriato/acqua interstiziale/ sedimento tal quale
<i>Heterocypris incongruens</i>	Mortalità, riproduzione	sedimento tal quale/sedimento umido*
<i>Thamnocephalus platyrus</i>	Mortalità	elutriato/acqua interstiziale
<i>Caenorhabditis elegans</i>	Mortalità, crescita, fertilità, riproduzione	sedimento tal quale
<i>Lumbriculus variegatus</i>	Mortalità, riproduzione	sedimento tal quale
<i>Danio rerio</i> adulti	Mortalità	elutriato
<i>Danio rerio</i> uova	Schiusa delle uova	elutriato
<i>Danio rerio</i> embrioni	Mortalità	elutriato
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	Inibizione della crescita	elutriato
<i>Cyprinus carpio</i>	Inibizione della crescita	elutriato

*sedimento umido: sedimento privato di acqua interstiziale (ad esempio, per centrifugazione, filtrazione, ecc.).

I risultati ottenuti da ciascun saggio ecotossicologico che costituisce la batteria di saggi biologici vengono indicizzati secondo criteri di integrazione ponderata che considerano le seguenti variabili:

- percentuale di effetto misurata (E%), al netto del controllo negativo (Correzione di Abbott);
- significatività statistica della differenza tra campione e controllo mediante test-t per campioni con varianza disomogenea (Fattore di Correzione Statistica, FCS);
- rilevanza ecologica della tipologia di matrice esaminata (M);
- severità dell'effetto (S);
- rappresentatività ecologica dell'organismo test utilizzato rispetto all'ambiente indagato e importanza rispetto alla rete trofica (O).

L'effetto (E%) rappresenta la variazione percentuale dell'end-point misurato in almeno 3 repliche tra il campione e il controllo negativo e viene espresso come valore medio. Tale percentuale di effetto è calcolata indipendentemente dalla significatività statistica che rappresenta il livello di significatività (p) per cui le risposte del controllo e del campione possono considerarsi statisticamente diverse (FCS; Tabella 3.2).

Tabella 3.2 – Peso attribuito al livello di significatività della differenza tra campione e controllo (FCS).

Peso	Significatività statistica
0.2	$p > 0.1$
0.95	$0.1 \geq p > 0.05$
1.0	$p \leq 0.05$

M rappresenta la rilevanza ecologica della matrice su cui viene condotto il saggio (es. sedimento tal quale, acqua interstiziale, elutriato, estratto, ecc.), il cui peso da assegnare a ciascuna tipologia indagabile nel caso delle valutazioni su sedimenti fluviali e lacustri è dettagliato in Tabella 3.3.

Tabella 3.3 - Pesi attribuiti alla rilevanza ecologica della tipologia di matrice esaminata (M) nel caso di sedimenti lacustri e fluviali (rielaborati dal Manuale ISPRA 88/2013).

Sedimenti lacustri		Sedimenti fluviali	
Peso	Descrizione	Peso	Descrizione
1	elutriato	1	sedimento tal quale
0.8	acqua interstiziale	0.8	elutriato
0.6	sedimento tal quale	0.4	acqua interstiziale
0.4	sedimento umido*		sedimento umido*
0.2	estratto organico	0.2	estratto organico

* *sedimento privato di acqua interstiziale (ad esempio, per centrifugazione, filtrazione, ecc.)*

La matrice elutriato da sottoporre ai saggi ecotossicologici può essere ottenuta trattando il sedimento in acqua bidistillata con un rapporto solido:liquido 1:4 (peso secco/volume) sotto agitazione (possibilmente basculante) per 30 – 60 min lasciando sedimentare la sospensione ottenuta per alcune ore, o centrifugandola (il tempo totale di contatto deve essere circa 24 h) e separando e filtrando il surnatante. (American Society of Testing and Materials ASTM, 1998 - Standard guide for conducting sediment toxicity test with freshwater invertebrates).

Per una analisi più approfondita del significato e della rappresentatività delle matrici si rimanda al paragrafo 1.3 del Manuale ISPRA 88/2013.

La severità della risposta (S) rappresenta la gravità della tipologia dell'effetto biologico misurato (es. mortalità, crescita, bioluminescenza, immobilizzazione, ecc.). Nella Tabella 3.4 sono riportati i pesi attribuiti ai differenti *end-point* misurabili in una batteria di saggi per sedimenti delle acque interne.

Tabella 3.4 - Pesi attribuibili al tipo di end-point (S) misurato (Manuale ISPRA 88/2013).

Peso	Descrizione
1	Alterazioni comportamentali (es. nuoto, movimento, capacità di infossamento, ecc.)
1,2	Mutagenicità e genotossicità
1,5	Fecondazione e sviluppo (riproduzione, schiusa uova, fecondazione, metamorfosi, ecc., fissazione larve, ecc.)
1,9	Crescita (taglia, peso, divisione cellulare, ecc.)
2,4	Bioluminescenza e crescita algale
3	Mortalità - Immobilità

La rappresentatività dell'organismo test utilizzato rispetto all'ambiente indagato e l'importanza rispetto alla rete trofica (O) sono stati introdotti come fattori ponderali *ex novo* rispetto all'indice proposto da Manzo e collaboratori (2008). In effetti la scelta di considerare anche la rappresentatività dell'organismo come ulteriore variabile nasce dalla necessità di offrire un numero maggiore di test utilizzabili in fase di studio/monitoraggio.

Nella Tabella 3.5 sono riportati i pesi attribuiti agli organismi consigliati.

Tabella 3.5 - Pesi attribuiti al tipo di organismo (O) in funzione della rappresentatività rispetto all'ambiente indagato e dell'importanza rispetto alla rete trofica.

Organismo	regno/phylum	Ruolo ecologico*	Distribuzione	Rappresentatività	Livello trofico	Peso (O)
<i>Salmonella typhimurium</i>	batterio	D	ubiquitario	2	0.8	1.6
<i>Arthrobacter globiformis</i>	batterio	D	suolo	0.8	0.8	0.64
<i>Vibrio fischeri</i>	batterio	D	mare	0.8	0.8	0.64
<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i> (<i>Selenastrum capricornutum</i>)	alga	P	acque dolci	2	1	2
<i>Ulva pertusa</i>	alga	P	acque dolci	2	1	2
<i>Lemna minor</i>	pianta	P	acque dolci	2	1	2

Organismo	regno/phylum	Ruolo ecologico*	Distribuzione	Rappresentatività	Livello trofico	Peso (O)
<i>Myriophyllum aquaticum</i>	pianta	P	acque dolci	2	1	2
<i>Sorghum saccharatum</i>	pianta	P	suolo	0.8	1	0.8
<i>Lepidium sativum</i>	pianta	P	suolo	0.8	1	0.8
<i>Sinapis alba</i>	pianta	P	suolo	0.8	1	0.8
<i>Vicia faba</i>	pianta	P	suolo	0.8	1	0.8
<i>Brachionus calyciflorus</i>	rotifero	Cp	acque dolci	2	0.9	1.8
<i>Daphnia magna</i>	artropode	Cp	acque dolci	2	0.9	1.8
<i>Ceriodaphnia dubia</i>	artropode	Cp	acque dolci	2	0.9	1.8
<i>Heterocypris incongruens</i>	artropode	Cp	acque dolci	2	0.9	1.8
<i>Thamnocephalus platyrus</i>	artropode	Cp	acque dolci	2	0.9	1.8
<i>Caenorhabditis elegans</i>	nematode	Cp	suolo	0.8	0.9	0.72
<i>Lumbriculus variegatus</i>	anellide	Cp	suolo	0.8	0.9	0.72
<i>Danio rerio</i>	pesce	Cs	acque dolci	2	0.6	1.2
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	pesce	Cs	acque dolci	2	0.6	1.2
<i>Cyprinus carpio</i>	pesce	Cs	acque dolci	2	0.6	1.2

*D = Decompositore; P = Produttore; Cp = Consumatore primario; Cs = Consumatore secondario

In generale la ponderazione dei fattori M, S, O ed FCS riportata nelle tabelle precedenti (Tabelle 3.2 -3.5) è stata attribuita secondo giudizio esperto.

Naturalmente il peso di ciascun fattore è suscettibile di modifiche ed adattamenti in funzione delle specificità locali.

Il punteggio di ciascun saggio biologico (Ps_i) costituente la batteria applicata a ciascun campione viene quindi calcolato come:

$$Ps_i = (FCS * M * S * O)_i$$

In Appendice 1 è riportato un quadro riepilogativo dei pesi e il punteggio complessivo attribuibile a ciascun saggio, al fine di agevolare gli operatori nel calcolo dell'indice di tossicità della batteria di test.

Il risultato del singolo saggio biologico (Ep_i) viene quindi così ponderato:

$$Ep_i = (E\%)_i * Ps_i$$

Di conseguenza il punteggio complessivo dei saggi biologici costituenti la batteria (Eb) sarà dato dalla sommatoria dei singoli punteggi relativi a ciascun organismo:

$$Eb = \sum_{i=1}^N Ep_i$$

Gli Eb calcolati possono essere riportati ad una scala relativa tra 0 e 1, utilizzando come fattore di normalizzazione l'espressione (Fn):

$$Fn = \frac{1}{100 * \sum_{i=1}^N Ps_i}$$

L'indice integrato per la batteria di test ecotossicologici (TBI) sarà determinato da:

$$TBI = Eb * Fn = \frac{\sum_{i=1}^N Ep_i}{100 * \sum_{i=1}^N Ps_i}$$

I valori di TBI possono essere suddivisi in 4 raggruppamenti corrispondenti a giudizi di pericolo ecotossicologico crescente. La scala di tossicità proposta è riportata nella Tabella 3.6.

Tabella 3.6 - Scala di pericolo ecotossicologico definito in base all'indice integrato TBI.

TBI	Scala di pericolo ecotossicologico
$TBI \leq 0,1$	Assente/relativamente trascurabile
$0,1 < TBI \leq 0,30$	Moderato
$0,3 < TBI \leq 0,5$	Elevato
$TBI > 0,5$	Severo

3.2 - Derivazione dei livelli chimici di pericolo ecotossicologico

Dal calcolo dell'indice integrato e sulla base della scala di tossicità proposta da Manzo e collaboratori (2008), modificata secondo quanto riportato in Tabella 2.10, possono essere definiti alcuni livelli chimici di riferimento per quei parametri la cui distribuzione dei dati e la cui significatività statistica evidenziano un contributo agli effetti biologici misurati.

In pratica il set di dati chimici dovrà essere ripartito nelle diverse classi di pericolo sulla base del valore dell'indice di batteria TBI. Previa elaborazione statistica, potranno quindi essere calcolati dei livelli chimici di pericolo ecotossicologico.

Partendo dai raggruppamenti dei campioni determinati dai valori di TBI secondo la classificazione riportata in Tabella 3.6 si otterrà la suddivisione dei dati chimici per ciascun analita in quattro gruppi. I 4 gruppi di dati chimici così ottenuti andranno elaborati su base statistica al fine di verificare che risultino significativamente differenti dal punto di vista statistico con un livello di confidenza pari al 95% (test-t per varianza omogenea o disomogenea in funzione della significatività del test-F). Come descrittore statistico per ciascun gruppo chimico si propone di utilizzare il 90° percentile, rappresentativo della classe di pericolo ecotossicologico corrispondente. Dovrà essere infine verificata l'ipotesi che all'aumentare del pericolo ecotossicologico corrisponda un aumento del livello chimico. Nella Tabella 3.7 sono riportati i raggruppamenti dei TBI e i livelli chimici corrispondenti.

Tabella 3.7 – Raggruppamenti del TBI e livelli chimici associati.

TBI	Livello chimico di pericolo ecotossicologico (*)
$TBI \leq 0,1$	A
$0,1 < TBI \leq 0,30$	B
$0,3 < TBI \leq 0,5$	C
$TBI > 0,5$	D

*90° percentile dei dati chimici appartenenti al raggruppamento ottenuto dalla classificazione dei TBI

La scelta del 90° percentile è motivata dalla distribuzione non normale dei dati nella maggior parte dei casi e da un principio cautelativo finalizzato alla esclusione dei valori più elevati sovrapposti con i dati del livello di pericolo successivo.

3.3 - Opzioni gestionali

I livelli chimici di pericolo ecotossicologico rappresentano la base per la definizione di differenti classi di qualità dei sedimenti di acque interne, a ciascuna delle quali potranno essere associate misure/azioni per la gestione dei sedimenti. Quest'ultima dovrà essere basata sulle priorità stabilite dal livello di pericolo ecotossicologico ottenuto, nonché dal grado di pericolo ritenuto accettabile in quanto compatibile con il contesto ambientale.

In tale logica vengono definite cinque classi di qualità dei sedimenti alle quali dovranno corrispondere misure ambientali diverse, quali ad esempio quelle di cui alla Tabella 3.8.

Tabella 3.8 – Proposta di misure per la gestione dei sedimenti in funzione della classe di qualità.

Classe	Concentrazione chimica [X]	Categorie di azioni da intraprendere
1	$< A$	Qualità del sedimento in corrispondenza del quale il livello di pericolo ecotossicologico risulta sufficientemente basso o "accettabile" da non giustificare interventi di alcun tipo.
2	$A < [X] \leq B$	Qualità del sedimento in corrispondenza del quale si registra un pericolo ecotossicologico tale da suggerire l'attuazione di monitoraggi ambientali
3	$B < [X] \leq C$	Qualità del sedimento in corrispondenza del quale si registra un pericolo ecotossicologico tale da suggerire l'attuazione di azioni mirate di approfondimento conoscitivo.
4	$C < [X] \leq D$	Qualità del sedimento in corrispondenza del quale si registra un pericolo ecotossicologico significativo, tale per cui sono necessarie azioni conoscitive e interventi di messa in sicurezza temporanea, incluse restrizioni d'uso del territorio.
5	$[X] > D$	Qualità del sedimento in corrispondenza del quale si registra un pericolo ecotossicologico grave per il quale sono resi necessari rapidi interventi di rimozione delle pressioni e di messa in sicurezza e risanamento ambientale permanente.

In generale per azioni di approfondimento conoscitivo (classi 3 e 4) si intende un ampliamento delle conoscenze basato ad esempio sull'applicazione di saggi ecotossicologici che prevedano esposizioni di lunga durata (sub cronici e/o cronici), indagini di biomarker, test di bioaccumulo (sia su organismi nativi che su organismi test), determinazione della bioaccessibilità mediante metodi chimici, utilizzo di campionatori passivi per monitoraggi integrati nel tempo della frazione biodisponibile (Appendice 2), nonché valutazioni della struttura e stato di salute delle comunità acquatiche presenti nel sito in esame.

4. CASO STUDIO “AREA DEL BOI CERBUS”

4.1 - Inquadramento territoriale

L'area del caso studio è costituita dal reticolo idrografico afferente alla laguna di Boi Cerbus ossia il tratto terminale del Flumentepido-Paringianu, prima della immissione in laguna. Ad ovest dell'area di studio è presente il complesso industriale di Portovesme, ed in particolare il bacino dei fanghi rossi (Figura 4.1).



Figura 4.1: Area di studio

La parte terminale del bacino del Flumentepido-Paringianu è caratterizzata dalla presenza in affioramento di formazioni appartenenti alle successioni vulcanico-sedimentarie terziarie (serie ignimbratica) e formazioni quaternarie continentali e marine.

4.2 - Campionamento e analisi

Lungo l'asta fluviale del Flumentepido-Paringianu sono state identificate 10 sezioni trasversali di interesse (Figura 4.2) nelle quali, in funzione della larghezza dell'alveo e di altre caratteristiche morfologiche e deposizionali, sono state ubicate da 1 a 5 stazioni di campionamento. Laddove possibile sono stati prelevati 2 campioni: uno relativo ai primi 10 cm di profondità e

il secondo ad una profondità compresa fra 20 e 30 cm. In tutto sono stati prelevati ed analizzati 35 campioni.



Figura 4.2: Ubicazione delle 10 sezioni trasversali di campionamento lungo l'alveo. In corrispondenza di 1F sono state ubicate 5 stazioni di campionamento; in 16F, 17F e 20F sono state ubicate 3 stazioni di campionamento; nelle sezioni rimanenti è stata posizionata una stazione al centro dell'alveo.

Il prelievo dei sedimenti superficiali è stato condotto manualmente, immergendo direttamente il contenitore nel sedimento (il battente d'acqua era di circa 10 cm). Per il prelievo dei sedimenti a profondità comprese tra 20 e 30 cm è stato impiegato un carotiere manuale in acciaio INOX avente lunghezza di 0,50 m e diametro di 5 cm.

Ogni campione è stato sottoposto all'analisi di metalli (Al, As, Cd, Cr, Hg, Ni, Pb, Cu, V, Zn, Ti, Be, Tl, Co, Se, Sn) e a una batteria di saggi biologici costituita da *Vibrio fischeri*, *Pseudokirreniella subcapitata*, *Daphnia magna*.

4.3 - Risultati

La concentrazione dei metalli e degli elementi in tracce (Tabella 4.1) evidenzia una sezione trasversale (1F, Vecchio Paringianu) in cui le concentrazioni dei campioni prelevati risultano più alte rispetto alla media.

Tabella 4.1 - Concentrazioni chimiche di metalli ed elementi in tracce determinate nei campioni analizzati.

Campione	As	Cd	Cr	Hg	Ni	Pb	Cu	V	Zn	Ti	Be	TI	Co	Se	Sn
	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹
1Fa0-10	18	11	73	5,4	34	64	33	113	290	149	2,11	1,30	8,5	3,0	3,7
1Fa20-30	12	3,5	26	0,28	19	118	16	41	164	271	1,35	0,51	8,4	0,84	1,7
1Fb0-10	177	146	52	1,5	46	1030	80	167	3570	664	0,90	1,40	15	0,58	2,9
1Fb20-30	31	38	25	0,45	20	193	20	46	443	216	1,11	0,85	8,4	1,4	1,4
1Fc0-10	18	15	31	0,66	25	215	24	50	480	253	1,23	0,73	7,6	2,1	1,8
1Fc20-30	20	18	36	0,88	29	293	29	59	660	263	1,37	0,89	8,8	2,5	2,1
1Fd0-10	133	182	43	3,3	42	1160	40	148	3300	242	1,72	3,30	14	3,6	2,4
1Fd20-30	26	35	23	0,43	20	233	22	40	520	181	1,20	1,20	7,0	1,3	1,3
1Fe0-10	5,6	2,7	5,6	0,10	5,0	60	4	15	139	121	0,05	0,01	1,3	0,15	0,5
1Fe20-30	9,9	5,1	10	0,17	7,3	64	8	17	115	126	0,37	0,25	2,5	0,15	0,6
11F	6,2	2,2	7,5	0,16	48	112	31	8,8	368	46	0,05	0,19	1,3	1,6	0,7
13F	23	17	58	1,3	37	730	156	84	1510	308	2,13	1,30	11	6,5	6,1
14F	14	13	29	0,82	23	610	208	37	1110	135	1,02	0,51	7,4	2,7	3,9
15F	9,9	8,6	22	0,68	17	379	130	27	750	70	0,86	0,42	5,2	1,8	1,0
15Fb	18	15	46	0,93	34	650	156	58	1190	207	1,69	0,79	11	3,1	5,4
16Fa0-10	2,6	0,36	5,6	0,055	4,1	26	11	8,3	44	78	0,05	0,01	2,4	0,02	0,3
16Fa20-30	3,1	0,48	6,6	0,059	4,4	35	8,3	8,0	49	68	0,05	0,01	2,3	0,02	0,5
16Fb0-10	2,0	0,57	4,2	0,079	3,1	30	4,8	5,8	54	80	0,22	0,01	1,4	0,02	0,3
16Fb20-30	4,2	0,56	7,2	0,078	4,6	45	8,3	9,7	54	95	0,22	0,01	2,5	0,02	0,8
16Fc0-10	4,8	0,55	6,4	0,11	5,1	49	13	11	77	100	0,21	0,01	2,6	0,36	1,1
16Fc20-30	7,1	0,69	9,3	0,21	6,6	81	16	13	85	89	0,30	0,01	3,1	0,02	0,8
17Fa0-10	2,4	0,36	6,9	0,046	4,4	33	9,6	16	68	191	0,23	0,05	2,9	0,02	0,7
17Fa20-30	2,3	0,29	6,4	0,064	4,3	34	3,7	9,5	45	150	0,27	0,05	2,3	0,02	0,5
17Fb0-10	3,0	0,42	6,2	0,061	4,3	40	7,1	11	68	120	0,20	0,05	2,5	0,02	0,7
17Fb20-30	2,6	0,33	6,6	0,085	4,0	30	3,7	11	50	184	0,24	0,05	2,3	0,34	0,5
17Fc0-10	3,8	0,43	8,9	0,42	6,0	43	10	13	90	116	0,27	0,12	3,1	0,39	0,6
17Fc20-30	2,8	0,63	6,6	0,068	5,1	37	3,8	9,0	71	124	0,29	0,05	2,5	0,02	0,6
18Fa0-10	2,1	0,23	5,6	0,033	4,0	33	5,1	8,1	50	70	0,05	0,01	2,0	0,02	0,4
19F	10	0,15	21	0,21	18	116	27	29	195	159	0,89	0,33	6,8	1,2	3,3
20Fa 20-30	17	2,8	22	0,26	13	132	14	28	283	258	1,08	0,23	6,3	0,42	1,4
20Fa0-10	36	5,2	16	0,46	15	315	24	32	680	136	0,75	0,23	8,8	0,57	1,8
20Fb 20-30	11	2,1	16	0,15	10	90	12	20	214	138	0,74	0,15	4,1	0,36	1,5
20Fb0-10	22	8,2	20	0,73	19	373	33	37	820	236	1,05	0,43	8,2	0,91	2,2
20Fc0-10	15	6,0	16	0,54	13	265	24	28	590	180	0,82	0,29	5,5	0,66	1,6
20Fc20-30	12	1,5	13	0,11	7,2	103	7,3	15	152	108	0,46	0,01	3,3	0,02	2,5

L'andamento delle concentrazioni standardizzate ($x_{st} = (x_i - \bar{x})/\delta$) lungo il tratto dell'asta fluviale Flumentepido-Nuovo Paringianu (Figura 4.3) mostra, ad eccezione del nichel e dell'arsenico nel campione 19F, valori sotto la media che, al contrario, si portano sopra la media in corrispondenza del campione 15F, ubicato dopo la confluenza del Flumentepido con il Canale di Guardia. Da quest'ultimo campione e fino al campione 13F le concentrazioni tendono a crescere, per poi tornare a valori confrontabili con quelli rilevati nei campioni di sedimento superficiale prelevati in laguna e prossimi alla foce del Nuovo Paringianu.

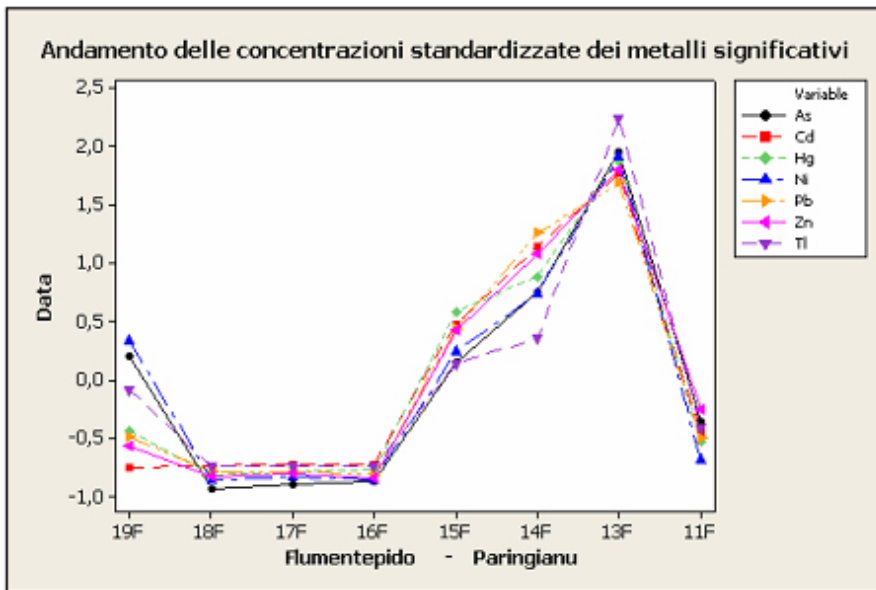


Figura 4.3: Andamento delle concentrazioni standardizzate dei metalli lungo l'asta fluviale da monte (stazione 19F) a valle (stazione 11F). Valori più elevati si riscontrano a valle della confluenza con il Canale di Guardia (15F, 14F, 13F).

I risultati dei saggi ecotossicologici hanno mostrato effetti di entità molto variabile; la maggiore tossicità è stata evidenziata nei campioni prelevati in corrispondenza del Vecchio Paringianu (Stazione 1F) che già aveva mostrato concentrazioni più alte rispetto alla media dei metalli.

L'applicazione della procedura di cui al paragrafo 3.1 per il calcolo dell'indice di batteria ha prodotto i valori di TBI riportati in Tabella 4.2 (*primo step*) che ha a sua volta determinato quattro raggruppamenti di campioni, come mostrati nella Tabella 4.3 (*secondo step*).

Tabella 4.2 - Risultati dei saggi ecotossicologici espressi come percentuale di effetto (E%) rispetto alla matrice tal quale e calcolo del TBI per i campioni analizzati.

Campioni	<i>Pseudokirreniella subcapitata</i>			<i>Daphnia magna</i>			<i>Vibrio fisheri</i>			<i>P. subcapitata</i>	<i>D.magna</i>	<i>V.Fisheri</i>	TBI
	E%	FCS	O*S*M (Appendice A1)	E%	FCS	O*S*M (Appendice A1)	E%	FCS	O*S*M (Appendice A1)	E _p = E%*P _s (=FCS*O*S*M)			$TBI = \frac{\sum_{i=1}^N E p_i}{100 * \sum_{i=1}^N P s_i}$
1Fa0-10	12,4	1,0	3,8	100	1,0	4,3	80,3	1,0	1,5	47,5	430	120	0,62
1Fa20-30	7,1	1,0	3,8	65	1,0	4,3	87,7	1,0	1,5	27,4	280	131	0,45
1Fb0-10	12,6	1,0	3,8	100	1,0	4,3	0,0	0,2	1,5	48,5	430	0,0	0,57
1Fb20-30	11,5	1,0	3,8	100	1,0	4,3	85,2	1,0	1,5	44,3	430	128	0,62
1Fc0-10	8,8	1,0	3,8	100	1,0	4,3	28,4	1,0	1,5	33,8	430	42,6	0,53
1Fc20-30	6,9	1,0	3,8	100	1,0	4,3	67,9	1,0	1,5	26,4	430	102	0,58
1Fd0-10	13,5	1,0	3,8	100	1,0	4,3	1,3	1,0	1,5	51,7	430	1,9	0,50
1Fd20-30	9,6	1,0	3,8	100	1,0	4,3	87,7	1,0	1,5	36,9	430	131	0,62
1Fe0-10	12,9	1,0	3,8	100	1,0	4,3	0,0	0,2	1,5	49,6	430	0,0	0,57
1Fe20-30	11,0	1,0	3,8	100	1,0	4,3	21,0	1,0	1,5	42,2	430	31,5	0,52
11F	13,0	1,0	3,8	0	0,2	4,3	0,0	0,2	1,5	50,0	0,0	0,0	0,10
13F	9,0	1,0	3,8	0	0,2	4,3	82,7	1,0	1,5	34,7	0,0	124	0,26
14F	7,2	1,0	3,8	90	1,0	4,3	65,4	1,0	1,5	27,6	387	98,2	0,53
15F	7,4	1,0	3,8	0	0,2	4,3	77,8	1,0	1,5	28,6	0,0	117	0,23
15Fb	14,6	1,0	3,8	0	0,2	4,3	60,5	1,0	1,5	56,2	0,0	90,8	0,24
16Fa0-10	7,2	1,0	3,8	0	0,2	4,3	0,0	0,2	1,5	27,6	0,0	0,0	0,06
16Fa20-30	6,4	1,0	3,8	0	0,2	4,3	0,0	0,2	1,5	24,5	0,0	0,0	0,05
16Fb0-10	9,0	1,0	3,8	0	0,2	4,3	0,0	0,2	1,5	34,7	0,0	0,0	0,07
16Fb20-30	3,5	0,2	3,8	0	0,2	4,3	0,0	0,2	1,5	2,7	0,0	0,0	0,01
16Fc0-10	6,4	1,0	3,8	0	0,2	4,3	0,0	0,2	1,5	24,5	0,0	0,0	0,05
16Fc20-30	4,3	0,95	3,8	0	0,2	4,3	0,0	0,2	1,5	15,5	0,0	0,0	0,03
17Fa0-10	8,8	1,0	3,8	5	0,2	4,3	0,0	0,2	1,5	33,7	4,3	0,0	0,08
17Fa20-30	12,5	1,0	3,8	0	0,2	4,3	0,0	0,2	1,5	48,0	0,0	0,0	0,10
17Fb0-10	8,5	1,0	3,8	0	0,2	4,3	0,0	0,2	1,5	32,7	0,0	0,0	0,07
17Fb20-30	12,2	1,0	3,8	25	1,0	4,3	0,0	1,0	1,5	47,0	108	0,0	0,16
17Fc0-10	8,0	1,0	3,8	0	0,2	4,3	0,0	0,2	1,5	30,6	0,0	0,0	0,06
17Fc20-30	2,9	0,2	3,8	25	1,0	4,3	0,0	1,0	1,5	2,2	108	0,0	0,17
18Fa0-10	6,6	1,0	3,8	0	0,2	4,3	0,0	0,2	1,5	25,5	0,0	0,0	0,05
18Fa20-30	13,8	1,0	3,8	0	0,2	4,3	40,8	0,2	1,5	53,1	0,0	12,2	0,13
19F	8,0	1,0	3,8	0	0,2	4,3	0,0	0,2	1,5	30,6	0,0	0,0	0,06
20Fa0-10	11,4	1,0	3,8	35	1,0	4,3	58,0	1,0	1,5	43,9	151	87,0	0,29
20Fa20-30	16,0	1,0	3,8	15	1,0	4,3	75,3	1,0	1,5	61,3	64,5	113	0,25
20Fb0-10	14,9	1,0	3,8	5	0,2	4,3	0,0	0,2	1,5	57,2	4,3	0,0	0,12
20Fb20-30	14,1	1,0	3,8	0	0,2	4,3	75,3	1,0	1,5	54,1	0,0	113	0,27
20Fc0-10	8,5	1,0	3,8	40	1,0	4,3	48,2	1,0	1,5	32,7	172	72,2	0,29
20Fc20-30	15,7	1,0	3,8	15	1,0	4,3	58,0	1,0	1,5	60,3	64,5	87,0	0,22

Tabella 4.3 – Ripartizione dei dati chimici in funzione dei raggruppamenti TBI

CLASSE 1 (TBI ≤ 0.1)	TBI	As	Cd	Cr	Hg	Ni	Pb	Cu	V	Zn	Ti	Be	Tl	Co	Se	Sn
		mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹
16Fb20-30	0,014	4,2	0,56	7,2	0,078	4,6	45	8,27	9,7	54	95	0,22	n.d.	2,5	n.d.	0,83
16Fc20-30	0,032	7,1	0,69	9,3	0,21	6,6	81	16	13	85	89	0,30	n.d.	3,1	n.d.	0,84
16Fa20-30	0,049	3,1	0,48	6,6	0,059	4,4	35	8,33	8,0	49	68	n.d.	n.d.	2,3	n.d.	0,48
16Fc0-10	0,049	4,8	0,55	6,4	0,11	5,1	49	12,7	11	77	100	0,21	n.d.	2,6	0,36	1,1
18Fa0-10	0,051	2,1	0,23	5,6	0,033	4,0	33	5,11	8,1	50	70	n.d.	n.d.	2,0	n.d.	0,39
16Fa0-10	0,055	2,6	0,36	5,6	0,055	4,1	26	11,2	8,3	44	78	n.d.	n.d.	2,4	n.d.	0,32
17Fc0-10	0,061	3,8	0,43	8,9	0,42	6,0	43	10	13	90	116	0,27	0,12	3,1	0,39	0,59
19F	0,061	10	0,15	21	0,21	18	116	27	29	195	159	0,89	0,33	6,8	1,2	3,3
17Fb0-10	0,065	3,0	0,42	6,2	0,061	4,3	40	7,1	11	68	120	0,20	0,05	2,5	n.d.	0,70
16Fb0-10	0,069	2,0	0,57	4,2	0,079	3,1	30	4,8	5,8	54	80	0,22	n.d.	1,4	0,43	0,31
17Fa0-10	0,076	2,4	0,36	6,9	0,046	4,4	33	9,6	16	68	191	0,23	0,05	2,9	n.d.	0,65
17Fa20-30	0,096	2,3	0,29	6,4	0,064	4,3	34	3,7	9,5	45	150	0,27	0,05	2,3	n.d.	0,51
11F	0,100	6,2	2,16	7,5	0,16	48	112	31	8,8	368	46	n.d.	0,19	1,3	1,59	0,71
CLASSE 2 (0.1 < TBI ≤ 0.3)	TBI	As	Cd	Cr	Hg	Ni	Pb	Cu	V	Zn	Ti	Be	Tl	Co	Se	Sn
		mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹
20Fb 20-30	0,123	11	2,1	16	0,15	10	90	11,5	20	214	138	0,74	0,15	4,1	0,36	1,5
17Fb20-30	0,160	2,6	0,33	6,6	0,085	4,0	30	3,7	11	50	184	0,24	0,05	2,3	0,34	0,54
17Fc20-30	0,166	2,8	0,63	6,6	0,068	5,1	37	3,8	9	71	124	0,29	0,05	2,5	0,05	0,58
20Fc20-30	0,221	12	1,5	13	0,11	7,2	103	7,3	15	152	108	0,46	0,05	3,3	0,15	2,5
15F	0,237	9,9	8,6	22	0,68	17	379	130	27	750	70	0,86	0,42	5,2	1,82	1,0
15Fb	0,239	18	15	46	0,93	34	650	156	58	1190	207	1,7	0,79	11	3,1	5,4
20Fa0-10	0,249	36	5,2	16	0,46	15	315	24	32	680	136	0,75	0,23	8,8	0,57	1,8
13F	0,259	23	17	58	1,3	37	730	156	84	1510	308	2,1	1,3	11	6,5	6,1
20Fb0-10	0,272	22	8,2	20	0,73	19	373	33	37	820	236	1,05	0,43	8,2	0,91	2,2
20Fc0-10	0,288	15	6	16	0,54	13	265	24	28	590	180	0,82	0,29	5,5	0,66	1,6
20Fa 20-30	0,293	17	2,8	22	0,26	13	132	14	28	283	258	1,08	0,23	6,3	0,42	1,4
CLASSE 3 (0.3 < TBI ≤ 0.5)	TBI	As	Cd	Cr	Hg	Ni	Pb	Cu	V	Zn	Ti	Be	Tl	Co	Se	Sn
		mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹
1Fa20-30	0,457	12	3,5	26	0,28	19	118	16	41	164	271	1,4	0,51	8,4	0,84	1,7
1Fd0-10	0,501	133	182	43	3,3	42	1160	40	148	3300	242	1,7	3,3	14	3,6	2,4
1Fe20-30	0,522	9,9	5,1	10	0,17	7,3	64	8,2	17	115	126	0,37	0,25	2,5	0,05	0,62
1Fc0-10	0,525	18	15	31	0,66	25	215	24	50	480	253	1,2	0,73	7,6	2,1	1,8
14F	0,533	14	13	29	0,82	23	610	208	37	1110	135	1,0	0,51	7,4	2,7	3,9
1Fb0-10	0,568	177	146	52	1,5	46	1030	80	167	3570	664	0,9	1,4	15	0,58	2,9
1Fe0-10	0,569	5,6	2,7	5,6	0,099	5	60	3,7	15	139	121	n.d.	0,1	1,3	0,05	0,48
1Fc20-30	0,580	20	18	36	0,88	29	293	29	59	660	263	1,4	0,89	8,8	2,5	2,1
CLASSE 4 (TBI > 0.5)	TBI	As	Cd	Cr	Hg	Ni	Pb	Cu	V	Zn	Ti	Be	Tl	Co	Se	Sn
		mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹
1Fa0-10	0,622	18	11	73	5,4	34	64	33	113	290	149	2,11	1,3	8,5	3	3,7
1Fd20-30	0,622	26	35	23	0,43	20	233	22	40	520	181	1,2	1,2	7	1,3	1,3
1Fb20-30	0,626	31	38	25	0,45	20	193	20	46	443	216	1,11	0,85	8,4	1,4	1,4

La classe caratterizzata da una tossicità molto elevata (TBI > 0,5) è costituita da soli tre campioni, statisticamente insufficienti per le elaborazioni successive come raggruppamento distinto. Inoltre, i trend dei livelli chimici associati alle classi ecotossicologiche non seguono sempre lo stesso andamento crescente dei TBI; in particolare i livelli chimici (90° percentile) definiti per la classe con TBI > 0,5 sono per la maggior parte inferiori a quelli calcolati per il raggruppamento con TBI compresi tra 0,3 e 0,5. Per tali motivi è stato deciso di accorpate questi tre campioni alla classe precedente, caratterizzata da valori di TBI > 0,3. Nel caso specifico, tuttavia, le misure da implementare nella gestione della contaminazione dovranno tener conto della presenza in questa classe anche di tre campioni caratterizzati da una tossicità molto elevata.

Una volta definiti i raggruppamenti sulla base dei TBI e determinati quindi i raggruppamenti dei dati chimici (*terzo step*) si è proceduto all'elaborazione degli stessi per valutare la significatività statistica di ciascuna sostanza tra i gruppi di dati individuati (test-t per varianza omogenea o disomogenea in funzione della significatività del test-F). Inoltre, è stato valutato il trend di significatività del test-t in funzione del pericolo ecotossicologico (TBI crescente).

Nel caso di concentrazioni inferiori al limite di quantificazione (LOQ) il dato è stato sostituito con la metà del LOQ stesso.

L'analisi statistica (Tabella 4.4) ha evidenziato l'assenza di differenze significative tra i vari gruppi per Cu e Se ($p > 0,05$). Per tale ragione non è possibile imputare a questi due metalli alcun tipo di effetto tossico lineare¹.

Tabella 4.4 – Livelli di significatività p del Test-t per varianza disomogenea applicato tra i raggruppamenti a due a due. I gruppi sono denominati A, B e C in base alla simbologia che sarà utilizzata per la determinazione dei livelli chimici di pericolo ecotossicologico identificati con il descrittore statistico scelto (90° percentile). In grassetto sono indicati i test significativi ($p < 0,05$) con un livello di confidenza del 95%.

	Test-t A-B	Test-t B-C	Test-t A-C
As	0,0032	0,1511	0,0504
Cd	0,0087	0,0778	0,0467
Cr	0,0158	0,1928	0,0016
Hg	0,0135	0,1484	0,0426
Ni	0,1625	0,1022	0,0068
Pb	0,0096	0,5477	0,0240
Cu	0,0660	0,7808	0,0998
V	0,0136	0,0601	0,0056
Zn	0,0078	0,3303	0,0406
Ti	0,0091	0,2478	0,0164
Be	0,0060	0,1761	0,0001
TI	0,0679	0,0529	0,0076
Co	0,0049	0,2432	0,0013
Se	0,3882	0,6713	0,0726
Sn	0,0338	0,7493	0,0081

¹ L'elaborazione statistica proposta non può evidenziare effetti sinergici o più in generale di interazione tra contaminanti presenti in miscela.

L'elaborazione statistica per confronto tra gruppi ha inoltre evidenziato che il raggruppamento A è per la maggior parte dei metalli e degli elementi in tracce significativamente differente dal gruppo B, mentre quest'ultimo non ha mostrato mai differenze statisticamente significative con il gruppo C. Si è effettuato pertanto un ulteriore accorpamento tra il gruppo B e il gruppo C, tenuto anche conto che sono state evidenziate differenze statisticamente significative tra il gruppo A e il gruppo C. A seguito dell'ulteriore accorpamento sono stati eseguiti nuovamente i confronti mediante Test-t tra i due gruppi che sono risultati statisticamente differenti.

Alla luce delle elaborazioni effettuate è stato possibile determinare due livelli chimici di pericolo ecotossicologico (livello A e livello B) caratterizzati da valori di TBI $\leq 0,1$ e TBI $> 0,1$ (Tabella 4.5).

Tabella 4.5 - Valori chimici di riferimento (mg/kg p.s.) per l'area del Boi Cerbus derivati sulla base del 90° percentile di ciascun gruppo di dati individuati secondo l'indice TBI e risultati statisticamente significativi ad un livello di confidenza del 95%.

	Livello A	Livello B
	(TBI $\leq 0,1$)	(TBI $> 0,1$)
As	6,9	35
Cd	0,66	38
Cr	9,2	51
Hg	0,21	1,4
Ni	16	36
Pb	106	714
V	15,2	107
Zn	174	1446
Ti	157	269
Be	0,42	1,7
TI	0,26	1,3
Co	3,1	11
Sn	1,0	3,9

Tali livelli chimici di pericolo ecotossicologico generano tre classi di qualità (Tabella 4.6) a cui possono corrispondere tre differenti tipi di misure per la gestione dei sedimenti.

Tabella 4.6 - Definizione delle classi di qualità basata sulla determinazione dei livelli chimici di pericolo ecotossicologico.

	CLASSI DI QUALITA'		
	A	B	C
As	≤ 6,9	6,9 < [X] ≤ 35	>35
Cd	≤ 0,66	0,66 < [X] ≤ 38	>38
Cr	≤ 9,2	9,2 < [X] ≤ 51	>51
Hg	≤ 0,21	0,21 < [X] ≤ 1,4	>1,4
Ni	≤ 16	16 < [X] ≤ 36	>36
Pb	≤ 106	106 < [X] ≤ 714	>714
V	≤ 15	15 < [X] ≤ 107	>107
Zn	≤ 174	174 < [X] ≤ 1446	>1446
Ti	≤ 157	157 < [X] ≤ 269	>269
Be	≤ 0,42	0,42 < [X] ≤ 1,7	>1,7
Tl	≤ 0,26	0,26 < [X] ≤ 1,3	>1,3
Co	≤ 3,1	3,1 < [X] ≤ 11	>11
Sn	≤ 1,0	1,1 < [X] ≤ 3,9	>3,9

Nel caso dei campioni di sedimento provenienti dai corsi d'acqua afferenti alla Laguna di Boi Cerbus (Caratterizzazione ambientale della Laguna del Boi Cerbus - Piano di investigazione, trasmesso dal Comune di Portosufuso prot. n. 4175 del 13.05.2009), sulla base delle risultanze analitiche, i campioni sono stati classificati secondo quanto riportato nella Figura 4.4 e in Tabella 4.7.



Figura 4.4 - Punti di campionamento dei sedimenti del reticolo fluviale afferente alla laguna del Boi Cerbus. Sono evidenziate le aree prive di criticità (verde), le aree per le quali è stato evidenziato un pericolo ecotossicologico crescente (in giallo e arancio).

Nel caso dell'area indagata è stato suggerito nel tratto corrispondente al Vecchio Paringianu (area arancio in Figura 4.4) e al tratto finale del Nuovo Paringianu (area gialla in Figura 4.4) un approfondimento conoscitivo basato su analisi mirate alla determinazione del rischio di ingestione per il pascolo e analisi di biomarker, con la finalità di valutare effetti biologici precoci.

Le analisi di approfondimento hanno evidenziato una sostanziale assenza di rischi legati all'ecologia del sistema, mentre le indagini legate alla bioaccessibilità per via orale hanno evidenziato potenziali rischi per ingestione che sono stati quindi valutati dagli Enti competenti.

Tabella 4.7 – Valutazione dei campioni in base alle classi definite sulla base dei livelli chimici di pericolo ecotossicologico

Campione	As	Cd	Cr	Hg	Ni	Pb	V	Zn	Ti	Be	Tl	Co	Sn
	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹
1Fa0-10	18	11	73	5,4	34	64	113	290	149	2,11	1,30	8,5	3,7
1Fa20-30	12	3,5	26	0,28	19	118	41	164	271	1,35	0,51	8,4	1,7
1Fb0-10	177	146	52	1,5	46	1030	167	3570	664	0,90	1,40	15	2,9
1Fb20-30	31	38	25	0,45	20	193	46	443	216	1,11	0,85	8,4	1,4
1Fc0-10	18	15	31	0,66	25	215	50	480	253	1,23	0,73	7,6	1,8
1Fc20-30	20	18	36	0,88	29	293	59	660	263	1,37	0,89	8,8	2,1
1Fd0-10	133	182	43	3,3	42	1160	148	3300	242	1,72	3,30	14	2,4
1Fd20-30	26	35	23	0,43	20	233	40	520	181	1,20	1,20	7,0	1,3
1Fe0-10	5,6	2,7	5,6	0,10	5,0	60	15	139	121	0,05	0,01	1,3	0,5
1Fe20-30	9,9	5,1	10	0,17	7,3	64	17	115	126	0,37	0,25	2,5	0,6
11F	6,2	2,2	7,5	0,16	48	112	8,8	368	46	0,05	0,19	1,3	0,7
13F	23	17	58	1,3	37	730	84	1510	308	2,13	1,30	11	6,1
14F	14	13	29	0,82	23	610	37	1110	135	1,02	0,51	7,4	3,9
15F	9,9	8,6	22	0,68	17	379	27	750	70	0,86	0,42	5,2	1,0
15Fb	18	15	46	0,93	34	650	58	1190	207	1,69	0,79	11	5,4
16Fa0-10	2,6	0,36	5,6	0,055	4,1	26	8,3	44	78	0,05	0,01	2,4	0,3
16Fa20-30	3,1	0,48	6,6	0,059	4,4	35	8,0	49	68	0,05	0,01	2,3	0,5
16Fb0-10	2,0	0,57	4,2	0,079	3,1	30	5,8	54	80	0,22	0,01	1,4	0,3
16Fb20-30	4,2	0,56	7,2	0,078	4,6	45	9,7	54	95	0,22	0,01	2,5	0,8
16Fc0-10	4,8	0,55	6,4	0,11	5,1	49	11	77	100	0,21	0,01	2,6	1,1
16Fc20-30	7,1	0,69	9,3	0,21	6,6	81	13	85	89	0,30	0,01	3,1	0,8
17Fa0-10	2,4	0,36	6,9	0,046	4,4	33	16	68	191	0,23	0,05	2,9	0,7
17Fa20-30	2,3	0,29	6,4	0,064	4,3	34	9,5	45	150	0,27	0,05	2,3	0,5
17Fb0-10	3,0	0,42	6,2	0,061	4,3	40	11	68	120	0,20	0,05	2,5	0,7
17Fb20-30	2,6	0,33	6,6	0,085	4,0	30	11	50	184	0,24	0,05	2,3	0,5
17Fc0-10	3,8	0,43	8,9	0,42	6,0	43	13	90	116	0,27	0,12	3,1	0,6
17Fc20-30	2,8	0,63	6,6	0,068	5,1	37	9,0	71	124	0,29	0,05	2,5	0,6
18Fa0-10	2,1	0,23	5,6	0,033	4,0	33	8,1	50	70	0,05	0,01	2,0	0,4
19F	10	0,15	21	0,21	18	116	29	195	159	0,89	0,33	6,8	3,3
20Fa 20-30	17	2,8	22	0,26	13	132	28	283	258	1,08	0,23	6,3	1,4
20Fa0-10	36	5,2	16	0,46	15	315	32	680	136	0,75	0,23	8,8	1,8
20Fb 20-30	11	2,1	16	0,15	10	90	20	214	138	0,74	0,15	4,1	1,5
20Fb0-10	22	8,2	20	0,73	19	373	37	820	236	1,05	0,43	8,2	2,2
20Fc0-10	15	6,0	16	0,54	13	265	28	590	180	0,82	0,29	5,5	1,6
20Fc20-30	12	1,5	13	0,11	7,2	103	15	152	108	0,46	0,01	3,3	2,5

5. CONCLUSIONI

Nel presente quaderno vengono argomentati alcuni principi metodologici finalizzati alla definizione di livelli chimici di riferimento utili alla gestione del potenziale pericolo ambientale per gli ecosistemi fluviali e lacustri.

Tale metodologia è basata su un approccio integrato chimico ed ecotossicologico in cui la *“driving force”* per la definizione dei livelli chimici è rappresentata dall'applicazione di una batteria di saggi ecotossicologici i cui risultati vengono integrati con criteri ponderati, al fine di ottenere un giudizio complessivo del pericolo ecotossicologico gravante sul sedimento.

In breve la metodologia prevede i seguenti *step* operativi:

1. elaborazione dei dati ecotossicologici per il calcolo del TBI;
2. costruzione dei raggruppamenti dei campioni in base al TBI;
3. ripartizione dei dati chimici di caratterizzazione dei campioni in base ai raggruppamenti ottenuti dai TBI;
4. elaborazione statistica dei quattro gruppi ottenuti e calcolo del 90° percentile per ciascun gruppo di ciascun analita (calcolo dei livelli chimici). Il calcolo dei livelli chimici andrà effettuato per i soli analiti che abbiano mostrato differenze statisticamente significative tra i gruppi corrispondenti alle classi di TBI e abbiano mostrato un trend crescente “correlato” al giudizio di pericolo crescente rappresentato da tali classi.
5. identificazione delle classi di qualità dei sedimenti e formulazione delle eventuali misure da attuare per la gestione ambientale.

Il metodo proposto consente di individuare dei livelli chimici di pericolo ecotossicologico basati prevalentemente su effetti di tipo acuto, sulla base dei quali è possibile individuare le aree in cui implementare misure di gestione ambientale anche differenti tra di loro.

L'approccio integrato, se pur non basato su valutazioni di natura ecologica, rappresenta infatti uno strumento in grado di mettere in relazione l'approccio chimico con una stima dei potenziali effetti sugli organismi e pertanto offre un supporto operativo alla gestione di problematiche ambientali legate ad una contaminazione chimica.

6. BIBLIOGRAFIA

APAT (2009). Proposta per la valutazione dello stato qualitativo dei sedimenti fluviali nel sito di interesse nazionale Fiumi Saline ed Alento, <http://www.isprambiente.gov.it/files/temi/protocollo-sedimenti-saline-alento-rev1.pdf>

Battelle Memorial Institute Earth Tech, Inc NewFields, Inc, (2002). - Guidance for environmental background analysis Volume I: *Soil, Naval facilities engineering command Washington*, DC 20374-5065

Burgess RM, Berry WJ, Mount DR, Di Toro DM, (2013). Mechanistic sediment quality guidelines based on contaminant bioavailability: equilibrium partitioning sediment benchmarks, *Environmental Toxicology and Chemistry*, 32 (1), 102–114

Burton G.A., (2017). Breaking from tradition: establishing more realistic sediment quality guidelines, *Environ Sci Pollut Res*, January 2017 online,

CCME EPC-98E (1995). Protocol for the Derivation of Canadian Sediment Quality Guidelines for the Protection of Aquatic Life, *Canadian Council of Ministers of the Environment*

Di Toro D.M., (2013). The interplay of environmental toxicology and chemistry in the development of sediment quality criteria, *Environmental Toxicology and Chemistry*, 32 (1) 7–9

Ferard J.F., Blaise C., (2013). Encyclopedia of Aquatic Ecotoxicology, Springer Reference, DOI. 10.1007/978-94-007-5704-2

Hunt J.W., Anderson B.S., Phillips B.M., Tjeerdema R.S., Taberski K.M., Wilson C.J., Puckett H.M., Stephenson M., Fairey R., Oakden J. (2001). A large-scale categorization of sites in san francisco bay, usa, based on the sediment quality triad, toxicity identification evaluations, and gradient studies, *Environmental Toxicology and Chemistry*, 20, 1252–1265
Huo S., Xi B., Yu X., Su J., Zan F., Zhao G., (2013), Application of equilibrium partitioning approach to derive sediment quality criteria for heavy metals in a shallow eutrophic lake, Lake Chaohu, China. *Environ. Earth Sci* 69 (7) 2275–2285

Ingersoll C.G., MacDonald D., Wang N., Crane J.L., Field L., Haverland P.S., Kemble N.E., Lindscoog R.A., Severn C., Smorong D.E., (2001).

Predictions of sediment toxicity using consensus-based freshwater sediment quality guidelines, *Arch, Environ, Contam, Toxicol*, 41, 8–21

ISPRA (2011). Rapporto 154/2011, Standard di qualità di sedimenti fluviali e lacustri, www.isprambiente.gov

ISPRA (2013). Manuale 88/2013, Batterie di saggi ecotossicologici per sedimenti e acque interne, www.isprambiente.gov

Kwok K.W., Batley G.E., Wenning R.J., Zhu L., Vamgheluwe M., Lee S. (2014). Sediment quality guidelines: challenges and opportunities for improving sediment management, *Environ Sci Pollut Res Int.*, 21, 17-27

Liou S., Lo S., Wang S. (2004). A generalized water quality index for Taiwan, *Environmental Monitoring and Assessment* 96: 35–52

MacDonald D.D., Berger T., Wood K., Brown J., Johnsen T., Haines M.L., Brydges K., MacDonald M.J., Smith S.L., Shaw D.P. (1999). *A Compendium of Environmental Quality Benchmarks* [Report-GBEI 99-001] http://www.rcaro.org/attach/filedownloads/do_down/no/10049

Manzo S., De Nicola F., De Luca Picione F., Maisto G., Alfani A. (2008). Assessment of the effects of soil PAH accumulation by a battery of ecotoxicological tests, *Chemosphere* 71, 1937-1944.

Nowell L.H., Norman J.E., Ingersoll C.G., Moran P.W., (2016). Development and application of freshwater sediment-toxicity benchmarks for currently used pesticides, *Science of the Total Environment* 550, 835–850

Ottonello G., Serva L, (2003). *Geochemical Baselines of Italy*, Pacini edizioni

Phillips B., Hunt J.W., Anderson B.S., Puckett H.M., Fairey R., Wilson C.J., Tjeerdema R., (2001). Statistical significance of sediment toxicity test results: threshold values derived by the detectable significance approach. *Environ. Toxicol. Chem.*, 20, 371-373.

Piva F., Ciaprini F., Onorati F., Benedetti M., Fattorini D., Ausili A., Regoli F., (2011). Assessing sediment hazard through a weight of evidence approach with bioindicator organisms: A practical model to elaborate data from sediment chemistry, bioavailability, biomarkers and ecotoxicological bioassays, *Chemosphere* 83, 475–485

Reynoldson T.B., Smith E.P., Bailer A.J., (2002). A comparison of three weight-of-evidence approaches for integrating sediment contamination data within and across lines of evidence, *Human and Ecological Risk Assessment*, 8, 1613-1624

Roig N., Sierra J., Nadal M., Moreno-Garrido I., Nieto E., Hampel M., Gallego E.P., Schumacher M., Blasco J. (2015). Assessment of sediment ecotoxicological status as a complementary tool for the evaluation of surfacewater quality: the Ebro river basin case study *Science of the Total Environment* 503–504, 269–278

Simpson S., Batley G., (2016). Sediment quality assessment *A practical guide - Second edition*, CSIRO Publishing, ISBN 9781486303861

Wenning R.J., Adams W.J., Batley G.E., Berry W.J., Birge W.J., Bridges T.S., Burton G.A., Chapman P.M., Douglas W.S., Engler R.M., Ingersoll C.G., Moore D.W., Stahl R.G., Word J.Q., (2005). Using sediment assessment tools and a weight of evidence approach, In: Wenning RJ, Batley GE, Ingersoll CG, Moore DW (eds) *Use of sediment quality guidelines and related tools for the assessment of contaminated sediments*, SETAC Press, Pensacola, FL, pp 11–38

U.S. Environmental Protection Agency (1993). – Technical basis for deriving sediment quality criteria for non ionic organic contaminant for the protection of benthic organism by using equilibrium partitioning, *EPA-822-R-93-011*, Washington D,C,

USEPA (2004). Procedures for the derivation of equilibrium partitioning sediment benchmarks (ESBs) for the protection of benthic organisms: metal mixtures (cadmium, copper, lead, nickel, silver and zinc), *EPA-600-R-02-011*, Office of Research and Development, Washington, DC

APPENDICE 1 - PARAMETRI PER IL CALCOLO DEL TBI

Tabella A.1 - Caratteristiche generali dei saggi biologici utilizzabili e pesi attribuiti alle variabili considerate nell'indice TBI modificato (O = tipologia di Organismo; S = endpoint; MF = tipologia di matrice per fiumi; ML = tipologia di matrice per laghi)

Organismo	Durata test	Ambiente	Matrice testata	Endpoint	O	S	MF	ML	Fiumi	Laghi
									O*S*MF	O*S*ML
<i>Salmonella typhimurium</i> Test di Ames	48, 72 h	ubiquitario	estratto	mutagenicità, genotossicità	1,6	1,2	0,2	0,2	0,4	0,4
<i>Salmonella typhimurium</i> umu-test	4 h	ubiquitario	elutriato	genotossicità	1,6	1,2	0,8	1	1,5	1,9
<i>Arthrobacter globiformis</i>	6 h	suolo	elutriato	inibizione deidrogenasi	0,64	2,4	0,8	1	1,2	1,5
<i>Arthrobacter globiformis</i>	6 h	suolo	tal quale	inibizione deidrogenasi	0,64	2,4	1	0,6	1,5	0,9
<i>Vibrio fischeri</i>	5, 15, 30 min	mare	elutriato	inibizione bioluminescenza	0,64	2,4	0,8	1	1,2	1,5
<i>Vibrio fischeri</i>	5, 15, 30 min	mare	tal quale	inibizione bioluminescenza	0,64	2,4	1	0,6	1,5	0,9
<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	72 h	acqua dolce	elutriato	inibizione crescita	2	2,4	0,8	1	3,8	4,8
<i>Ulva pertusa</i>	96 h	mare	elutriato	inibizione riproduzione	2	1,5	0,8	1	2,4	3,0
<i>Lemna minor</i>	168 h	acqua dolce	elutriato	inibizione crescita	2	1,9	0,8	1	3,0	3,8
<i>Myriophyllum aquaticum</i>	10 d	acqua dolce	tal quale	inibizione crescita	2	1,9	1	0,6	3,8	2,3
<i>Sorghum saccharatum</i>	72 h	suolo	tal quale	germinazione/	0,8	1,9	1	0,6	1,5	0,9

Organismo	Durata test	Ambiente	Matrice testata	Endpoint	O	S	MF	ML	Fiumi	Laghi
				allungamento radicale						
<i>Lepidium sativum</i>	72 h	suolo	tal quale	germinazione/ allungamento radicale	0,8	1,9	1	0,6	1,5	0,9
<i>Sinapis alba</i>	72 h	suolo	tal quale	germinazione/ allungamento radicale	0,8	1,9	1	0,6	1,5	0,9
<i>Vicia faba</i>	10 (14) d	suolo	tal quale	mutagenicità, genotossicità	0,8	1,2	1	0,6	1,0	0,6
<i>Brachionus calyciflorus</i>	48 h	acqua dolce	elutriato	mortalità/ immobilizzazione	1,8	3	0,8	1	4,3	5,4
<i>Daphnia magna</i>	24/48 h, 21 d	acqua dolce	elutriato	immobilizzazione	1,8	3	0,8	1	4,3	5,4
<i>Daphnia magna</i>	24/48 h, 21 d	acqua dolce	elutriato	riproduzione	1,8	1,5	0,8	1	2,2	2,7
<i>Ceriodaphnia dubia</i>	7 d	acqua dolce	elutriato	riproduzione	1,8	1,5	0,8	1	2,2	2,7
<i>Ceriodaphnia dubia</i>	7 d	acqua dolce	elutriato	mortalità	1,8	3	0,8	1	4,3	5,4
<i>Ceriodaphnia dubia</i>	7 d	acqua dolce	tal quale	riproduzione	1,8	1,5	1	0,6	2,7	1,6
<i>Ceriodaphnia dubia</i>	7 d	acqua dolce	tal quale	mortalità	1,8	3	1	0,6	5,4	3,2
<i>Heterocypris incongruens</i>	6 d	acqua dolce	tal quale	riproduzione	1,8	1,5	1	0,6	2,7	1,6
<i>Heterocypris incongruens</i>	6 d	acqua dolce	tal quale	mortalità	1,8	3	1	0,6	5,4	3,2
<i>Thamnocephalus platyrus</i>	24 h	acqua dolce	elutriato	mortalità	1,8	3	0,8	1	4,3	5,4

Organismo	Durata test	Ambiente	Matrice testata	Endpoint	O	S	MF	ML	Fiumi	Laghi
<i>Caenorhabditis elegans</i>	96 h	suolo	tal quale	fertilità, riproduzione	0,72	1,5	1	0,6	1,1	0,6
<i>Caenorhabditis elegans</i>	96 h	suolo	tal quale	crescita	0,72	1,9	1	0,6	1,4	0,8
<i>Caenorhabditis elegans</i>	96 h	suolo	tal quale	mortalità	0,72	3	1	0,6	2,2	1,3
<i>Lumbriculus variegatus</i>	28 d	acqua dolce	tal quale	riproduzione	0,72	1,5	1	0,6	1,1	0,6
<i>Lumbriculus variegatus</i>	28 d	acqua dolce	tal quale	mortalità	0,72	3	1	0,6	2,2	1,3
<i>Danio rerio</i> adulti	24, 48, 72, 96 h	acqua dolce	elutriato	mortalità	1,2	3	0,8	1	2,9	3,6
<i>Danio rerio</i> uova	10 (14) d	acqua dolce	elutriato	schiusa uova, sopravvivenza	1,2	1,5	0,8	1	1,4	1,8
<i>Danio rerio</i> embrioni	48 h	acqua dolce	elutriato	mortalità	1,2	3	0,8	1	2,9	3,6
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	14 d, 28 d	acqua dolce	elutriato	crescita	1,2	1,9	0,8	1	1,8	2,3
<i>Cyprinus carpio</i>	14 d, 28 d	acqua dolce	elutriato	crescita	1,2	1,9	0,8	1	1,8	2,3

APPENDICE 2 - CAMPIONATORI PASSIVI

I campionatori passivi

I campionatori passivi sono strumenti in grado di determinare la concentrazione mediata nel tempo di contaminanti sia organici che inorganici presenti a bassissime concentrazioni nell'acqua interstiziale.

I campionatori passivi sono in grado di descrivere la disponibilità dei contaminanti associati al sedimento catturando i contaminanti effettivamente liberi e già presenti nella fase acquosa e quelli legati in maniera labile alla fase solida (Figura A.1).

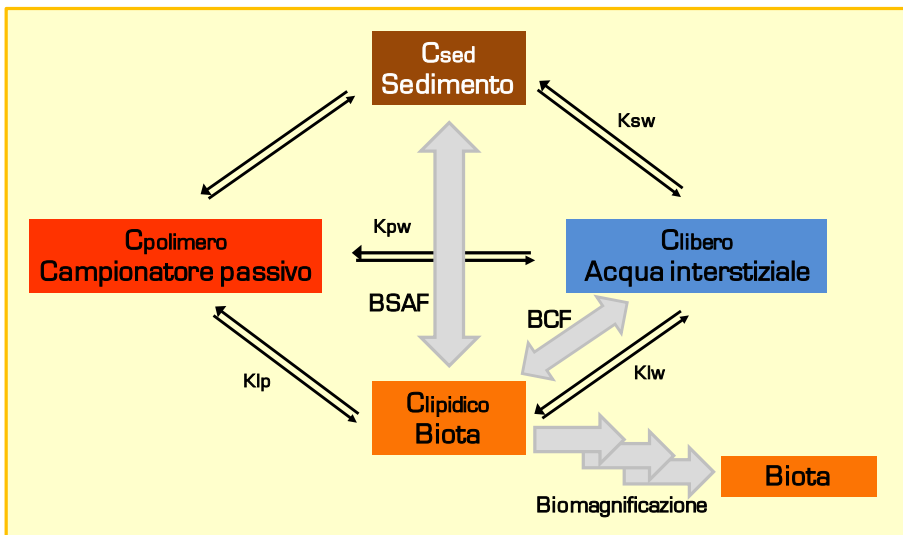


Figura A.1. Distribuzione in equilibrio chimico tra sedimenti, acqua e biota e campionatore passivo. Con le frecce grigie sono indicati i processi tossico-cinetici tra matrice e biota, mentre la ripartizione tra le matrici sono indicate dalle frecce nere e dai coefficienti di ripartizione associati ad essa.

Il funzionamento dei campionatori passivi può basarsi:

- sull'equilibrio di ripartizione che descrive la distribuzione dei contaminanti tra le diverse fasi del sedimento ovvero fase solida e acqua interstiziale;
- sulla cinetica del processo di trasferimento del contaminante da una fase ad un'altra ovvero sul flusso del contaminante dalla matrice verso il campionatore passivo.

L'applicazione del modello di ripartizione all'equilibrio per l'elaborazione dei dati è basata su due condizioni imprescindibili: la prima consiste nel fatto che l'equilibrio di distribuzione deve essere raggiunto; la seconda consiste nel fatto che la capacità adsorbente del campionatore deve poter essere considerata trascurabile rispetto all'ambiente di esposizione al fine di poter assumere che la concentrazione libera del contaminante catturata dal campionatore non disturbi le condizioni di equilibrio.

L'applicazione del modello cinetico per l'elaborazione dei dati è basata sull'applicazione di una equazione cinetica del primo ordine in cui siano note le costanti di scambio tra il campionatore e l'ambiente di esposizione, e il coefficiente di ripartizione tra il campionatore e l'acqua per ciascun contaminante. Nel caso dei sedimenti i dati ottenuti mediante campionamento passivo dovranno essere corretti mediante l'uso di composti di riferimento in grado di comportarsi similmente alla sostanza investigata (performance reference compound, PRC) (Vrana et al., 2005; Ghosh et al., 2014; Greenberg et al., 2014; Ludy et al., 2014).

I campionatori passivi per l'analisi dei metalli

Il principio su cui si basa il funzionamento dei campionatori passivi per l'analisi dei metalli nei sedimenti è quello di sfruttare il gradiente di diffusione verso un strato sottile adsorbente (diffusive gradients in thin films, DGT).

La tecnica si fonda sulla cinetica del processo di trasferimento del metallo dal sedimento o meglio dall'acqua interstiziale all'assorbente costituente il campionatore passivo. E' in grado pertanto di misurare in situ la concentrazione di metallo nell'acqua interstiziale o nello specifico il flusso dal sedimento all'acqua interstiziale (oppure all'acqua di fondo e/o all'interfaccia sedimento/acqua).

In breve, il metallo disciolto in acqua diffonde attraverso uno strato di gel impregnato con una resina chelante che è in grado di legarlo selettivamente (la resina chelante e/o adsorbente cambia in funzione del metallo indagato); le forme chimiche mobili del metallo sono lo ione libero, lo ione presente come complesso inorganico semplice, e il complesso organo-metallo labile (competendo con lo strato adsorbente diffusivo il metallo tende a liberarsi dal complesso organico per diffondere nel gel). Quando il campionatore passivo viene introdotto nel sedimento, il metallo presente nell'acqua interstiziale tende a diminuire localmente in concentrazione, adsorbendosi per diffusione sulla resina chelante; la diminuzione in concentrazione nell'acqua interstiziale viene però immediatamente colmata dal trasferimento del metallo legato alla fase solida in forma labile (ripartizione solido-liquido).

Questa reazione è guidata dal fattore cinetico (il passaggio in fase liquida è dipendente dalla velocità con cui il metallo viene rilasciato dalla fase solida labile) e pertanto in base a ciò è possibile costruire una relazione matematica lineare tra l'accumulo del metallo nella resina chelante e il tempo di utilizzo del campionatore. Le differenze nel flusso di metallo indotto dal DGT (o la concentrazione di metallo nell'acqua interstiziale calcolata assumendo una relazione lineare tra accumulo e tempo di contatto) può offrire utili informazioni sulla labilità ("biodisponibilità") dei metalli nei sedimenti.

I campionatori passivi (DGT) sono stati già sviluppati e validati per le misure di Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Hg, Ni, Pb, e Zn (la resina Chelex-100 è il substrato chelante), Al, As (III, V), Hg, Mo(VI), Sb(V), ione solfuro, Se(IV, VI), V(V), W(VI), e U (Ferriidrite, Metsorb(TiO₂), Mercapto-silice, Peijnenburg et al., 2014).

La durata del campionamento basato sull'utilizzo dei DGT può variare dalle 8h alle 48 h. I più comuni e diffusi DGT (DGT Research) contengono uno strato di resina chelante separata dalla matrice (suolo, sedimento acqua) da uno strato gel diffusivo di poliacrilammide e da una membrana avente un diametro di taglio nominale di 0,45 μm (Figura A.2). La resina è in grado di legare fortemente le specie labile di metallo che diffondono attraverso lo strato diffusivo generando un gradiente lineare di concentrazione nello strato di gel.

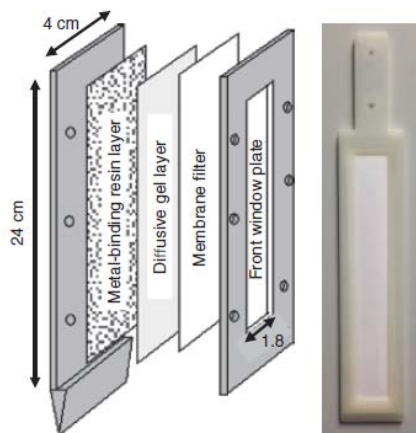


Figure A.2: Esempio di DGT (Modificato da DGT Research, 2015) disassemblato.

Dopo il recupero dal sedimento il DGT viene disassemblato. lo strato di resina viene sezionato in strisce sulla base di come è stato posizionato il campionatore nella matrice da campionare.

Se il campionatore è stato completamente immerso nella matrice non sarà necessario il sezionamento; se invece il campionatore è stato posizionato con una parte a contatto direttamente con l'acqua sovrastante il sedimento, allora lo strato di resina andrà sezionato in appropriate strisce corrispondenti alla zona di contatto con il sedimento, a quella con l'interfaccia acqua sedimento, e infine alla zona a contatto diretto con l'acqua sovrastante il sedimento. Le strisce di resina ottenute andranno misurate e quindi immerse separatamente in un volume esatto e noto di HNO₃ 1M (generalmente 1 ml) per almeno 24h per permettere il rilascio di metallo.

La massa di metallo (M, in µg) accumulata nella resina è calcolata da:

$$M = C_e \left(\frac{V_{HNO3} + V_{gel}}{f_e} \right)$$

dove C_e rappresenta la concentrazione nell'eluente (µg/ml), V_{HNO3} è il volume di HNO₃ per l'eluizione (generalmente 1 ml), V_{gel} è il volume della resina gel ed f_e è il fattore di eluizione che è specifico per ciascun metallo (tipicamente 0,8).

Il volume V_{gel} (espresso in ml) è calcolato da:

$$V_{gel} = l \times L \times \Delta r$$

dove l rappresenta la larghezza del gel (tipicamente per i campionatori passivi idonei ai sedimenti della DGT Research è pari a 1,73 cm), L rappresenta la lunghezza del gel (in cm) e misurata sperimentalmente per ciascuna striscia, e Δr è lo spessore della resina gel (tipicamente 0,025 cm).

Il flusso di metallo al DGT ($F_{DGT}, \frac{\mu g}{m^2} / h$) è calcolato da:

$$C_{DGT} = \frac{F_{DGT} \times \Delta g}{(D \times 1000)}$$

dove F_{DGT} è il flusso di metallo ($\frac{\mu\text{g}}{\text{m}^2}/\text{h}$), Δg è lo spessore dello strato diffusivo sommato allo spessore della membrana $0,45 \mu\text{m}$ (tipicamente $0,064 \text{ cm}$) e D è il coefficiente di diffusione per lo specifico analita alla temperatura dell'acqua all'atto del campionamento (per esempio $0,0189 \text{ cm}^2/\text{h}$ nel caso del Cu a 19°C) 8 (Ludy et al., 2014; Peijnenburg et al., 2014).

La concentrazione di metallo ottenuta rappresenta una stima integrata nel tempo della quantità di metallo in grado di essere mobilizzato.

I campionatori passivi per l'analisi delle sostanze organiche non polari

Negli ultimi anni sono stati sviluppati metodi di campionamento passivo per una grande quantità di sostanze organiche idrofobiche.

I campionatori passivi idonei alle sostanze idrofobiche sono basati sull'utilizzo di membrane semi-permeabili (SPMD) costituiti da membrane tubolari di polietilene a bassa densità (LDPE) riempiti con uno strato sottile di trioleina, un lipide sintetico ad alto peso molecolare. In alcuni casi possono essere utilizzati fogli semplici di polimero quali ad esempio polietilene a bassa densità (LDPE), poliossimetilene (POM) ecc., sistemi di estrazione per assorbimento (SBSE) basata su barre Twister di polidimetilsilossano (PDMS) e sistemi basati su microestrazione in fase solida (SPME) (Figura A.3) (Adams et al., 2007; Allan et al., 2009; Estoppey et al., 2015; Lang et al., 2015; Maruya et al., 2015; Charriau et al., 2016; Endo et al., 2017).

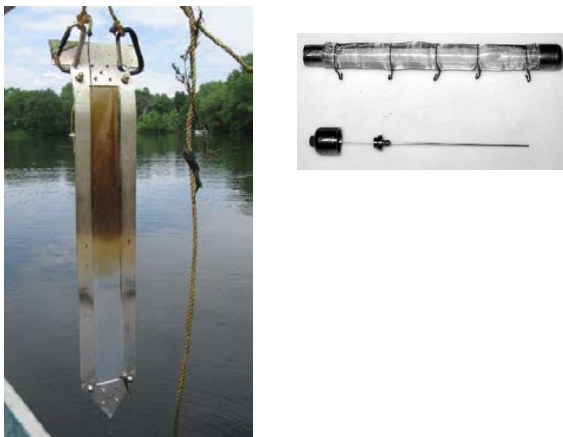


Figura A.3: Esempio di campionatori passivi per sostanze organiche idrofobiche: a) foglio di polimero, b) microestrazione in fase solida (Driscoll, 2016)

La maggior parte delle osservazioni formulate per i campionatori passivi idonei ai metalli valgono anche per le sostanze organiche idrofobiche. Ad esempio anche nel caso di un campionatore passivo per sostanze organiche quando esso viene introdotto nel sedimento l'analita presente nell'acqua interstiziale tende localmente a diminuire la concentrazione in acqua che però viene immediatamente ripristinata dal passaggio in acqua della sostanza organica legata alla fase solida.

Anche in questo caso la *“driving force”* è il fattore cinetico e pertanto può essere costruita una relazione matematica lineare tra l'accumulo della sostanza organica nel campionatore passivo e il tempo di utilizzo dello stesso.

La velocità di scambio delle sostanze organiche idrofobiche dai sedimenti ai campionatori è fortemente dipendente dalle caratteristiche dei contaminanti stessi, dalle proprietà dei sedimenti (in particolare, dalla concentrazione, dal tipo e dalle proprietà diffusive del carbonio organico presente nei sedimenti) e dalle proprietà e caratteristiche geometriche del campionatore passivo.

Le tipologie di campionatori passivi sviluppate finora sono di due tipi: quelli basati su fogli di materiale assorbente o quelli basati su fibre ricoperte da assorbenti. In entrambi i casi lo spessore e le dimensioni possono cambiare in funzione delle necessità.

Nel caso delle sostanze organiche il metodo di calibrazione per la misura dell'accumulo, il tempo di impiego, e il limite di rilevabilità ottenibile può variare considerevolmente tra i differenti tipi di campionatore.

Per i suddetti motivi, la calibrazione dei campionatori passivi (determinazione della velocità di accumulo, R_s) va effettuata in laboratorio in condizioni controllate di concentrazione dei contaminanti, temperatura dell'acqua e regime di turbolenza dell'acqua superficiale. Al fine di ottenere una misura realistica delle capacità di accumulo in campo, nel caso delle sostanze organiche non polari viene valutato il rilascio di un composto di riferimento (Performance Reference Compound, PRC) con il quale il campionatore passivo deve essere stato saturato prima dell'utilizzo.

Il PRC è un composto caratterizzato da proprietà chimico-fisiche il più possibile simili a quelle dei composti di interesse, e caratterizzato pertanto da costanti di adsorbimento e rilascio che siano molto vicine tra loro.

Misurando la diminuzione della concentrazione di PRC (Joyce et al., 2015) nel campionatore passivo a fine esposizione (assunta uguale alla concentrazione adsorbita dell'analita di interesse) è possibile calcolare la

concentrazione all'equilibrio tenendo conto quindi dei fattori ambientali sito specifici:

$$PCR_{frazione_persa} = \frac{PCR_{iniziale} - PCR_{finale}}{PCR_{iniziale}}$$

Partendo dalla costante di ripartizione all'equilibrio caratteristica del campionatore che è descritta da:

$$K_{pw} = \frac{C_p}{C_{disciolta}}$$

ma tenendo in considerazione che nel caso dell'adsorbimento dei composti organici non sempre siamo certi di aver raggiunto l'equilibrio e che pertanto è più corretto descrivere la dinamica di adsorbimento con un modello cinetico del primo ordine che segue l'equazione:

$$C_p = C_{disciolta} \cdot K_{pw} \cdot (1 - e^{-k_e t})$$

possiamo correggere la concentrazione dell'analita in fase disciolta determinando il rilascio del PCR:

$$C_{disciolta} = \frac{C_p}{PCR_{frazione_persa} \times K_{pw}}$$

I campionatori passivi per l'analisi delle sostanze organiche polari (POCIS)

I campionatori passivi idonei alle sostanze organiche polari (POCIS) più diffusi sono basati sull'utilizzo di un adsorbente solido racchiuso tra due membrane microporose di polietere sulfone (PES) il tutto trattenuto da due anelli di acciaio (Figura A.4) [Charriau et al., 2016; Behro et al., 2017; Criquet et al., 2017; Guibal et al., 2017; Iparraguirre et al., 2017].



Figura A.4: Esempio di campionatore passivo per sostanze organiche idrofiliche (Kolok)

Nel caso dei POCIS risulta particolarmente rilevante determinare la costante cinetica di campionamento (R_s espressa in $L d^{-1}$) e conoscere la costante di ripartizione adsorbente acqua.

Per i POCIS non esistono PRC idonei e pertanto per ottenere una stima quantitativa i POCIS dovrebbero essere utilizzati simultaneamente ai campionatori per le sostanze organiche non polari al fine di valutare tramite quest'ultimi le costanti cinetiche di campionamento (Męczykowska et al., 2017).

Bibliografia

Adams R., Lohmann R., Fernandez L.A., Macfarlane J.K., Gschwend P.M., (2007). Polyethylene Devices: Passive Samplers for Measuring Dissolved Hydrophobic Organic Compounds in Aquatic Environments, *Environ. Sci. Technol.*, 41, 1317-1323

Ahrens L., Daneshvara A., Lau A.E., Kreuger J., (2015). Characterization of five passive sampling devices for monitoring of pesticides in water, *Journal of Chromatography A*, 1405, 1–11

Allan I.J., Booij K., Paschke A., Vrana B., Mills G.A., Greenwood R., (2009). Field Performance of Seven Passive Sampling Devices for Monitoring of Hydrophobic Substances, *Environ. Sci. Technol.* 43, 5383–5390

Berho C., Claude B., Coisy E., Togola A., Bayoudh S., Morin P., Amalric L., (2017). Laboratory calibration of a POCIS-like sampler based on molecularly imprinted polymers for glyphosate and AMPA sampling in water, *Anal Bioanal Chem*, 409, 2029–2035

Charriau A., Lissalde S., Poulier G., Mazzella N., Buzier R., Guibaud G., (2016). Overview of the Chemcatchers for the passive sampling of various pollutants in aquatic environments Part A: *Principles, calibration, preparation and analysis of the sampler*, *Talanta*, 148, 556-571

Criquet J., Dumoulin D., Howsam M., Mondamert L., Goossens J.F., Prygiel J., Billon G., (2017). Comparison of POCIS passive samplers vs. composite water sampling: A case study, *Science of the Total Environment*, 609, 982–991

Driscoll, 2016.

<https://www.exponent.com/knowledge/alerts/2016/04/passive-samplers/~~/media/7ebd081e17764b579755c5c0e5a24be0.ashx>

Endo S., Yabuki Y., Tanaka S., (2017). Comparing polyethylene and polyoxymethylene passive samplers for measuring sediment porewater concentrations of polychlorinated biphenyls: Mutual validation and possible correction by polymer-polymer partition experiment, *Chemosphere*, 184, 358-365

Estoppey N., Omlin J., Schopfer A., Esseiva P., Vermeirssen E.L.M., Delemont O., F. De Alencastro L.F., (2015). Low density polyethylene (LDPE) passive samplers for the investigation of polychlorinated biphenyl (PCB) point sources in rivers, *Chemosphere* 118, 268-276

Ghosh U., Driscoll S.K., Burgess R.M., Jonker M.T.O., Reible D., Gobas F., Choi Y., Apitz S.E., Maruya K.A., Gala W.R., Mortimer M., Beegan C., (2014). Passive Sampling Methods for Contaminated Sediments: Practical Guidance for Selection, Calibration, and Implementation, *Integrated Environmental Assessment and Management*, 10, 210-223

Greenberg M.S., Chapman P.M., Allan I.J., Anderson K.A., Apitz S.E., Beegan C., Bridges T.S., Brown S.S., Cargill IV J.G., McCulloch M.C., Menzie C.A., Shine J.P. Parkerton T.F., (2014). Passive Sampling Methods for Contaminated Sediments: Risk Assessment and Management, *Integrated Environmental Assessment and Management*, 10, 224-236

Guibal R., Buzier R., Charriau A., Lissalde S., Guibaud G. (2017). Passive sampling of anionic pesticides using the Diffusive Gradients in Thin films technique (DGT), *Analytica Chimica Acta*, 966, 1-10

Iparraguirre A., Prieto A., Vallejo A., Moeder M., Zuloaga O., Etxebarria N., Paschke A. (2017). Tetraphasic polar organic chemical integrative sampler for the determination of a wide polarity range organic pollutants in water. The use of performance reference compounds and in-situ calibration, *Talanta* 164, 314-322

Joyce A.S., Pirogovsky M.S., Adams R.G., Lao W., Tsukada D., Cash C.L., Haw J.F., Maruya K.A., (2015). Using performance reference compound-corrected polyethylene passive samplers and caged bivalves to measure hydrophobic contaminants of concern in urban coastal seawaters, *Chemosphere*, 127, 10-17

Kolok

http://www.cdpr.ca.gov/docs/emon/surfwtr/presentations/pocis_workshop_1_2_3_4.pdf

Lang S.C., Hursthouse A., Mayer P., Kotke D., Hand I., Schulz-Bull D., Witt G., (2015). Equilibrium passive sampling as a tool to study polycyclic aromatic hydrocarbons in Baltic Sea sediment pore-water systems, *Marine Pollution Bulletin* 101, 296-303

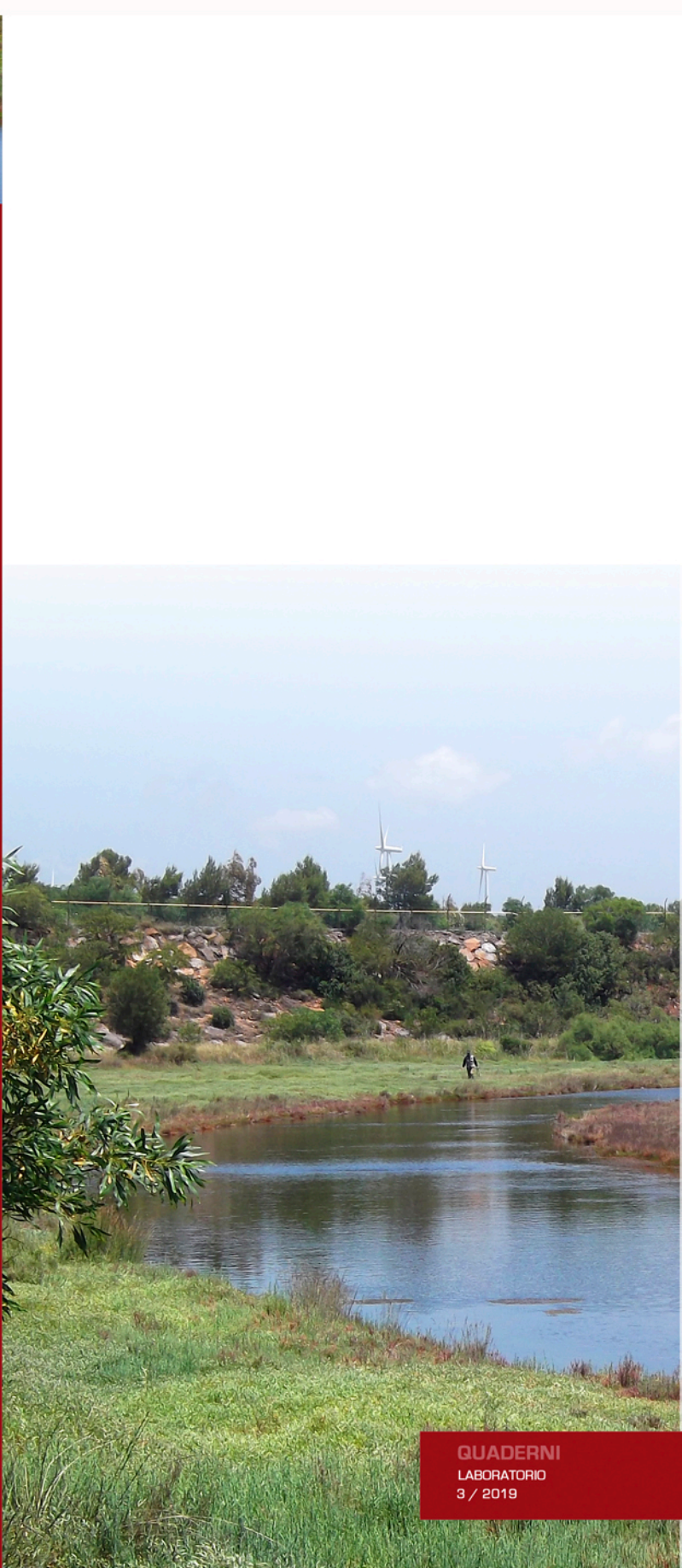
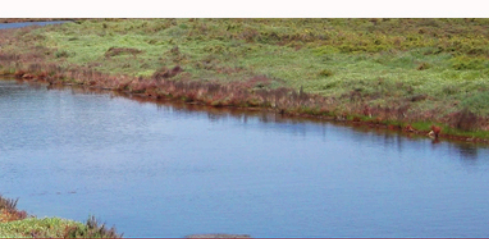
Ludy M.J., Landrum P.F., Oen A.M.P., Allinson M., Smedes F., Harwood A.D., Li H., Maruya K.A., Liu J., (2014). Passive Sampling Methods for Contaminated Sediments: State of the Science for Organic Contaminants, *Integrated Environmental Assessment and Management*, 10, 167-178

Maruya K.A., Lao W., Tsukada D., Diehl D.W., (2015). A passive sampler based on solid phase microextraction (SPME) for sediment-associated organic pollutants: Comparing freely-dissolved concentration with bioaccumulation, *Chemosphere*, 137, 192-197

Męczykowska H., Kobylis P., Stepnowski P., Caban M., (2017). Calibration of passive samplers for the monitoring of pharmaceuticals in water – sampling rate variation, *Crit Rev Anal Chem.* 47, 204-222

Peijnenburg W.J.G.M., Teasdale P.R., Reible D., Mondon J., Bennett W.W., Campbell P.G.C., (2014). Passive Sampling Methods for Contaminated Sediments: State of the Science for Metals, *Integrated Environmental Assessment and Management*, 10, 179-196

Vrana B., Mills G.A., Allan I.J., Dominiak E., Svensson K., Knutsson J., Morrison G., Greenwood R., (2005). Passive sampling techniques for monitoring pollutants in water, *Trends in Analytical Chemistry*, 24, 845-868



QUADERNI

LABORATORIO

3 / 2019