

# AUTORITA' PORTUALE



## PORTO CANALE DI CAGLIARI AVAMPOR TO EST DISTRETTO DELLA CANTIERISTICA

### PROGETTO DEFINITIVO OPERE A MARE

Titolo elaborato:

#### CARATTERIZZAZIONE DEI SEDIMENTI

Scala:

1 0    0 1 5    D R    0 0 5    - 0    G E O

Committente:

AUTORITA' PORTUALE  
DI CAGLIARI

R.U.P.:

Dott. Ing. Sergio MURGIA

Progetto Opere a Mare:

MODIMAR s.r.l.  
Prof. Ing. Alberto NOLI  
Dott. Ing. Marco TARTAGLINI

Progetto Opere a Terra:

DOLMEN s.r.l.  
Dott. Ing. Serafino RUBIU  
Dott. Ing. Luciano BIGGIO

Geologia

Dott. Geol. Marcello GHIGLIOTTI  
Studio di Inserimento Ambientale  
VDP s.r.l.

Dott. Ing. Francesco VENTURA  
Dott. Arch. Silvia MARTORANA

P.E.F. e Piano di Gestione  
Dott. Simone TEMPESTI

Rif. Dis.	Data	Rev.	DESCRIZIONE	Redatto:	Verificato:	Approvato:
	15/12/2011	0	EMISSIONE	E. CAMUSI	M. TARTAGLINI	A. NOLI

La MODIMAR s.r.l. si riserva la proprietà di questo disegno con la proibizione di riprodurlo o trasferirlo a terzi senza autorizzazione scritta.  
This document is property of MODIMAR s.r.l. Reproduction and divulgation forbidden without written permission

Visto del Committente:

Autorità Portuale di Cagliari	Raggruppamento: Modimar s.r.l. Dolmen s.r.l. V.D.P. s.r.l.	Titolo Elaborato: Caratterizzazione dei sedimenti					
Porto Canale di Cagliari Distretto della Cantieristica		Data: dicembre 2011					
PROGETTO DEFINITIVO OPERE A MARE	Dott. Geol. Marcello Ghigliotti Dott. Simone Tempesti	10	015	DRM	005	-1	GEN

## **AUTORITA' PORTUALE DI CAGLIARI**

### **PORTO CANALE DI CAGLIARI**

#### **AVAMPORTO EST**

### **DISTRETTO DELLA CANTIERISTICA**

### **PROGETTO DEFINITIVO OPERE A MARE**

### **CARATTERIZZAZIONE DEI SEDIMENTI**

## **INDICE**

1. PREMESSE

2

Allegato 1 – Relazione ISPRA

Allegato 2 – Relazione Università della Marche

Autorità Portuale di Cagliari	Raggruppamento: Modimar s.r.l. Dolmen s.r.l. V.D.P. s.r.l. Dott. Geol. Marcello Ghigliotti Dott. Simone Tempesti	Titolo Elaborato: Caratterizzazione dei sedimenti					
Porto Canale di Cagliari Distretto della Cantieristica		Data: dicembre 2011					
PROGETTO DEFINITIVO OPERE A MARE		10	015	DRM	005	-1	GEN

## 1. PREMESSE

Nel presente documento sono riportate le campagne di indagini eseguite per la caratterizzazione dei sedimenti da sottoporre a dragaggio.

Come prevista dalla normativa Regionale/Provinciale vigente in materia (v. Linee guida sull'immersione in mare di materiale derivante da attività di escavo, di inerti, di materiali inorganici e manufatti, attività di posa in mare di cavi e condotte - Provincia di Cagliari – Assessorato Ambiente e Difesa del Territorio) è stata eseguita la caratterizzazione dei sedimenti da sottoporre a dragaggio mediante n°2 campagne di indagini delle quali la prima ha riguardato la fascia di 100 m antistante la banchina di riva mentre la seconda ha riguardato la fascia antistante il molo ovest ed il canale di accesso.

In particolare la fascia prospiciente la banchina di riva è stata suddivisa in n°8 maglie delle quali 7 di dimensioni 100x100 m<sup>2</sup> ed una 50x100 m<sup>2</sup>, mentre la fascia antistante il molo ovest ed il canale di accesso è stata suddivisa in n°5 maglie di dimensioni 100x100 m<sup>2</sup>.

All'interno di ciascuna maglia è stato quindi prelevato un campione dei sedimenti da dragare mediante l'utilizzo di un vibro carotiere che ha permesso di eseguire il prelievo di una carota che ha riguardato l'intero spessore da dragare.

I campioni di sedimenti della prima campagna di indagini sono stati poi inviati al laboratorio dell'ISPRA mentre quelli della seconda campagna sono stati inviati al laboratorio dell'Università Politecnica della Marche di Ancona che hanno eseguito le analisi di caratterizzazione chimiche, fisiche e microbiologiche.

I risultati delle analisi di laboratorio eseguite ha evidenziato che la gran parte dei sedimenti dell'area da dragare è da considerarsi di buona qualità ambientale con prevalente presenza di sabbie.

Per quanto riguarda la fascia antistante la banchina di riva solo per il campione dello strato superficiale (primi 50 cm) della carota prelevata nella maglia n°5, immediatamente a ovest dell'imboccatura del canale di navigazione interno, è stata rilevata un concentrazione di composti organo stannici (TPHT e TBT) superiori al valore dell'LCL riportato nel "Manuale per la movimentazione dei sedimenti marini" (ICRAM-APAT, 2007) dovuta molto probabilmente allo sversamento di materiali contenenti composti antivegetativi, mentre per quanto riguarda la fa-

Autorità Portuale di Cagliari	Raggruppamento: Modimar s.r.l. Dolmen s.r.l. V.D.P. s.r.l. Dott. Geol. Marcello Ghigliotti Dott. Simone Tempesti	Titolo Elaborato: Caratterizzazione dei sedimenti					
Porto Canale di Cagliari Distretto della Cantieristica		Data: dicembre 2011					
PROGETTO DEFINITIVO OPERE A MARE		10	015	DRM	005	-1	GEN

scia antistante il molo ovest ed il canale di accesso ad eccezione della maglia P4 posizionata in corrispondenza dell'ingresso nella darsena, in tutte le maglie, in analogia con la campagna precedente, è stata rilevata un concentrazione di composti organo stannici (TPhT e TBT) superiori al valore dell'LCL riportato nel "Manuale per la movimentazione dei sedimenti marini" (ICRAM-APAT, 2007) anche in questo caso dovuta molto probabilmente allo sversamento di materiali contenenti composti antivegetativi.

Pertanto l'intero spessore di materiale da dragare nella maglia n°5 della fascia antistante la banchina di riva e l'intero volume da dragare nella fascia antistante il molo ovest e lungo il canale di accesso (volume circa 43.850 m<sup>3</sup>) verrà conferito nella porzione della Cassa di colmata n°2 presente all'interno del terrapieno posto a tergo della sponda ovest del porto canale che l'Autorità Portuale ha già programmato di impermeabilizzare per consentire l'immissione al suo interno di sedimenti marini contaminati classificati come rifiuto non pericoloso. Si tratta di una vasca (denominata CASSA 2 bis) della capacità di circa 230.000 m<sup>3</sup> con fondo naturalmente impermeabile e con le sponde impermeabilizzate artificialmente mediante la posa in opera di un geocomposito bentonitico che la Provincia di Cagliari ha già autorizzato al deposito dei sedimenti marini provenienti dai dragaggi dei fondali del porto con queste concentrazioni di inquinanti (Autorizzazione n.2 del 29 ottobre 2010).

Nell'allegato 1 è riportata la relazione tecnica redatta dall'ISPRA relativa alla caratterizzazione chimico, fisica e batteriologica della fascia di 100 m antistante la banchina di riva del Distretto della cantieristica, mentre nell'allegato 2 è riportata la relazione del Dipartimento di Scienze della Vita e dell'Ambiente dell'Università Politecnica delle Marche di Ancona che è finalizzata alla valutazione della qualità dei sedimenti da dragare lungo il canale di accesso.



# ISPRA

Istituto Superiore per la Protezione  
e la Ricerca Ambientale

## **Valutazione della qualità dei sedimenti dell'avamposto est del Porto Canale di Cagliari finalizzata al dragaggio**



David Pellegrini

**Responsabile scientifico ISPRA**

Simona Macchia - Letizia Dentone – Margherita Secci – Fabiano Pilato - Davide Sartori –

Andrea Gaion – Alice Scuderi – Fulvio Onorati

**Collaboratori ISPRA**

**Aprile 2011**

## INDICE

### PREMESSA

1. ATTIVITA' DI CAMPIONAMENTO .....	5
2. MATERIALI E METODI DI ANALISI.....	6
2.1 ANALISI FISICO-CHIMICHE.....	6
2.1.1 Caratteristiche granulometriche .....	6
2.1.2 Metalli e Sostanza Organica .....	6
2.1.3 Azoto e fosforo totali.....	7
2.1.4 IPA .....	7
2.1.5 PCB .....	8
2.1.6 Idrocarburi .....	9
2.1.7 Composti organostannici.....	9
2.1.8 Pesticidi organoclorurati .....	9
2.2 ANALISI ECOTOSSICOLOGICHE.....	10
2.2.1 Saggio biologico con <i>Vibrio fischeri</i> .....	10
2.2.2 Saggio biologico con <i>Paracentrotus lividus</i> .....	11
2.2.3 Saggio biologico con <i>Corophium orientale</i> .....	14
2.3 ANALISI MICROBIOLOGICHE.....	15
3. RISULTATI.....	16
3.1 ANALISI FISICO-CHIMICHE.....	16
3.1.1 Caratteristiche granulometriche .....	16
3.1.2 Descrizione macroscopica dei sedimenti .....	17
3.1.3 Metalli e Sostanza organica.....	17
3.1.4 Azoto e fosforo totali.....	18
3.1.5 IPA.....	18
3.1.6 PCB .....	19
3.1.7 Idrocarburi .....	20
3.1.8 Composti organostannici.....	21
3.1.9 Pesticidi organoclorurati.....	21
3.2 ANALISI ECOTOSSICOLOGICHE.....	22
3.2.1 Saggio biologico con <i>Vibrio fischeri</i> .....	22
3.2.2 Saggio biologico con <i>Paracentrotus lividus</i> .....	23
3.2.3 Saggio biologico con <i>Corophium orientale</i> .....	24
3.3 MICROBIOLOGIA .....	25
4. CLASSIFICAZIONE INTEGRATA DEI MATERIALI E CONCLUSIONI .....	26

## PREMESSA

Con il Decreto n. 161 del 23/07/2009 è stato approvato il progetto preliminare dei lavori di realizzazione del distretto della cantieristica nell'avamposto est del Porto Canale di Cagliari, progetto che prevede anche il dragaggio di un canale della lunghezza di 750 m e della larghezza di 100 m, sino ad una profondità di 5 m, al fine di consentire l'avvicinamento delle imbarcazioni alla banchina.

Con la nota del 19/10/2010 (prot. n.6801/10) la Provincia di Cagliari ha comunicato all'Autorità Portuale le modalità di esecuzione delle analisi, da effettuarsi secondo quanto disposto dagli artt. 7 e 18 delle Linee Guida proposte da ISPRA.

L'ISPRA ha svolto numerosi studi e ricerche ed applicazioni tecnico/scientifiche nel campo dei dragaggi portuali concernenti la caratterizzazione ambientale e la gestione dei sedimenti portuali, ivi compresa l'individuazione dei siti per lo sversamento controllato in mare ed il monitoraggio delle attività di movimentazione dei sedimenti. Inoltre, l'ISPRA ha redatto, nell'ambito della "Convenzione per il supporto tecnico scientifico nelle materie di cui all. art. 51, comma 2, L.R. n. 9/06" tra ISPRA e Provincia di Cagliari – Settore Ambiente sottoscritta in data 25/01/2010, il "*Regolamento Provinciale sull'immersione in mare dei materiali derivanti da attività di escavo, di inerti, di materiali inorganici e manufatti, attività di posa in mare di cavi e condotte*".

Le attività di caratterizzazione effettuate nell'area dell'avamposto est del Porto Canale di Cagliari sono state condotte principalmente sulla base delle prescrizioni del D.M. 24 gennaio 1996 del Ministero dell'Ambiente, integrate dalle indicazioni riportate nel "*Manuale per la movimentazione dei sedimenti marini*" del Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare redatto da ICRAM ed APAT (2007).

Per quanto attiene le attività di campionamento e di analisi è stato tenuto conto delle indicazioni e dei suggerimenti proposti nel quaderno "*Metodologie analitiche di riferimento*" redatto dal Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare in collaborazione con ICRAM e ANPA (AA.VV, 2001).

In riferimento alla classificazione dei materiali analizzati sono stati adottati i criteri indicati nel Manuale ICRAM-APAT (2007) per la gestione ambientale dei sedimenti da movimentare, confermati anche dalla recente proposta di Allegati Tecnici in riferimento all'art. 109 del D.Lgs. 152/06, riportante i criteri da osservare per il rilascio della autorizzazione alla immersione deliberata in mare dei materiali di escavo di fondali marini o salmastri o di terreni litoranei emersi,

nonché le modalità per la esclusione della possibilità tecnica di un loro utilizzo a fini di ripascimento o di recupero oppure del loro smaltimento alternativo.

La valutazione della qualità dei sedimenti e la conseguente classificazione scaturisce dalla integrazione delle informazioni relative alle caratteristiche fisiche, chimiche ed ecotossicologiche dei materiali. I riferimenti per tale classificazione sono costituiti dai livelli chimici di base (LCB) e livelli chimici limite (LCL) delle sostanze nei materiali e dai requisiti ecotossicologici degli stessi. Tali livelli presi di riferimento sono relativi all'ambito nazionale. Sarebbe opportuno avere a disposizione livelli locali, così come previsto nel medesimo manuale ICRAM-APAT.

## 1. ATTIVITA' DI CAMPIONAMENTO

Nell'area interessata dalle attività di movimentazione (vedi allegato cartografico) sono state individuate 8 aree di prelievo di forma quadrata con lato 100 m (ad eccezione della maglia P8 di dimensioni 50 m x 100 m).

All'interno di ciascuna maglia è stata posizionata una stazione di campionamento in cui è stata prelevata una carota di lunghezza variabile (Tabella 1). Da ciascuna carota sono stati ricavati campioni corrispondenti ai livelli 0-50 cm e/o 100-150 cm; dalle rimanenti sezioni sono state prelevate aliquote di sedimento che saranno conservate ed analizzate nel caso sia necessario effettuare ulteriori approfondimenti analitici (Tabella 1).

Di seguito si riportano le coordinate geografiche delle stazioni di campionamento (Tabella 1).

Tab. 1 Lunghezza carote, campioni analizzati e da conservare

Area	Sigla	Lunghezza carota (m)	N. campioni da analizzare	N. campioni da conservare	COORDINATE GEOGRAFICHE (WGS 84)	
Avamposto est	P1	2.00	2	2	39° 12' 14"N	9° 05' 94"E
	P2	1.50	2	1	39° 12' 15"N	9° 05' 11"E
	P3	1.50	2	1	39° 12' 18"N	9° 05' 64"E
	P4	1.00	1	1	39° 12' 68"N	9° 05' 17"E
	P5	1.00	1	1	39°12'12 73"N	9° 05' 45"E
	P6	1.00	1	1	39° 12' 16"N	9° 05'24 98"E
	P7	2.00	2	2	39° 12' 07"N	9° 05'28 24"E
	P8	2.00	2	2	39° 12'29 32"N	9° 05' 57"E
<b>TOTALE CAMPIONI</b>			<b>13</b>	<b>11</b>		

Una volta effettuato il prelievo in una stazione di campionamento, il sedimento è stato omogeneizzato sul campo e suddiviso in due aliquote principali, delle quali una utilizzata per la fase analitica e l'altra conservata a temperatura compresa tra -18 e -25 °C per eventuali verifiche. Le modalità di trasporto e conservazione dei campioni sono illustrate nella seguente tabella.

PARAMETRO	CONTENITORE	TRASPORTO	CONSERVAZIONE
Granulometria	plastica	4/6 °C	4/6 °C
Sostanza organica	polietilene	4/6 °C	-18/-25 °C
Chimica organica	vetro	4/6 °C	-18/-25 °C
Metalli e inorganici	polietilene	4/6 °C	-18/-25 °C
Microbiologia <sup>1</sup>	polietilene	4/6 °C	4/6 °C
Ecotossicologia <sup>2</sup>	polietilene	4/6 °C	4/6 °C

<sup>1</sup> da eseguire sul campione fresco entro le 24 ore;

<sup>2</sup> da eseguire sul campione fresco entro 10 giorni (salvo diversa indicazione prevista dagli specifici protocolli)

## **2. MATERIALI E METODI DI ANALISI**

Le metodiche seguite sono in riferimento al volume ICRAM – Ministero dell’Ambiente e della Tutela del Territorio (Servizio Difesa Mare) in *Metodologie analitiche di riferimento* nell’ambito del “Programma di monitoraggio per il controllo dell’ambiente marino costiero (triennio 2001-2003)”. Per alcuni parametri riportiamo in dettaglio come segue.

*La descrizione delle metodiche riportata potrà subire alcune rettifiche nella versione protocollata che verrà inviata successivamente.*

### **2.1 Analisi fisico-chimiche**

#### **2.1.1 Caratteristiche granulometriche**

Per la determinazione delle caratteristiche granulometriche dei sedimenti marini si tratta ogni campione (circa 70 g) con una soluzione di perossido di idrogeno ed acqua distillata (1:8) per 48 h a temperatura ambiente, per facilitare la separazione dei granuli.

In seguito, si separa il sedimento su maglia da 63  $\mu\text{m}$  in umido con acqua distillata; le due frazioni così ottenute vengono essiccate in stufa a 60 °C e successivamente pesate.

Si procede a vagliare la frazione > 63  $\mu\text{m}$  (sabbia e ghiaia) con pile di setacci da 2000, 1000, 500, 250, 125 e 63  $\mu\text{m}$  della serie ASTM; si pesa il sedimento corrispondente a ciascun intervallo e al termine delle operazioni si calcola in quale percentuale le varie frazioni sono presenti all’interno del campione.

#### **2.1.2 Metalli e Sostanza Organica**

Il campione (circa 0.3 g s.s.) è stato mineralizzato in bombe in teflon, con l’impiego di un forno a microonde opportunamente programmato (Milestone 1200), mediante l’aggiunta di 3 ml di  $\text{HNO}_3$  (65%) e di 1 ml di  $\text{HCl}$  (30%) ultrapuri. Alla soluzione ottenuta è stata aggiunta una quantità di acqua ultrapura tale da raggiungere il volume finale di 25 ml. La determinazione analitica è stata effettuata sia mediante l’impiego di Spettrofotometria ad Emissione Atomica (Varian Liberty AX Sequential ICP-AES) che di Spettrofotometria ad Assorbimento Atomico in fornetto di grafite (Varian Spectra AA 200 Z). La determinazione del Hg è stata eseguita tramite Spettrofotometria ad assorbimento atomico con LECO AMA 254 Advanced Mercury Analyzer, senza alcun pretrattamento del campione o preconcentrazione. L’accuratezza della metodica è stata valutata impiegando il

materiale standard di riferimento LGC 6137 (Promochem), che è stato processato con le stesse modalità dei campioni. Il limite di rilevabilità della metodica e il limite di quantificazione per ogni metallo analizzato è riportato in Tabella 2.

Tab. 2 Limiti di rilevabilità e di quantificazione

	Al	As	Cd	Cr	Cu	Hg	Ni	Pb	V	Zn
<b>Rilevabilità (mg/l)</b>	0,078	0,0005	0,00004	0,0061	0,0035	0,0004	0,0071	0,0036	0,027	0,1672
<b>Quantificazione (mg/kg)</b>	6,50	0,0441	0,0029	0,512	0,2951	0,0369	0,5907	0,2998	2,2499	13,93

L'accuratezza della metodica rispetto a materiali certificati (sedimento portuale) viene riportata di seguito:

Recupero %	Al	As	Cd	Ba	Cr	Cu	Fe	Hg	Ni	Pb	V	Zn
<b>LGC</b>	112	111	97	102	105	99	103	102	102	95	104	108

Per la determinazione della sostanza organica si pesano circa 3 g di campione e si lasciano in muffola a 365° per 12 ore. Si effettuano 2 pesate, una prima dell'esposizione in muffola ed una subito dopo e si determina la sostanza organica per sottrazione.

### 2.1.3 Azoto e fosforo totali

Le analisi condotte, il metodo utilizzato, l'unità di misura e il limite di quantificazione per la determinazione di azoto e fosforo sono riportati in Tabella 3.

Tab. 3 Metodiche analitiche, unità di misura e limite di quantificazione

	Metodo	U.M.	LOQ
<b>Azoto totale</b>	D.M. 13/09/99 VI.1	mg/Kg s.s.	472,0
<b>Fosforo totale</b>	EPA 3051A 2007 + EPA 6010C 2007	mg/Kg s.s.	0,46

### 2.1.4 IPA

In Tabella 4 sono riportati il metodo utilizzato, l'unità di misura e il limite di quantificazione per la determinazione degli IPA.

Tab. 4 Metodiche analitiche, unità di misura e limite di quantificazione

Parametro	Metodo	U.M.	LOQ
<b>IPA</b>			
<b>Naftalene</b>	EPA 3540C 1996 + EPA 8270D 1998	ng/g p.s.	0,01
<b>1Me-Naftalene</b>			
<b>2Me-Naftalene</b>			
<b>Acenaftene</b>			
<b>Fluorene</b>			
<b>Fenantrene</b>			
<b>Antracene</b>			
<b>Fluorantene</b>			
<b>Pirene</b>			
<b>Benzo(a)antracene</b>			
<b>Crisene</b>			
<b>7,12-DiMeBenzo(a)Antracene</b>			
<b>Benzo(b)fluorantene</b>			
<b>Benzo(k)fluorantene</b>			
<b>Benzo(a)pirene</b>			
<b>Dibenzo(AH)antracene</b>			
<b>Benzo(ghi)perilene</b>			
<b>Indeno(123cd)pirene</b>			

## 2.1.5 PCB

Tab. 5 Metodiche analitiche, unità di misura e limite di quantificazione

Parametro	Metodo	U.M.	LOQ
PCB4	EPA 3540c 1996 + EPA 8082 1996	ng/g p.s.	0,5
PCB8			
PCB11			
PCB16			
PCB17			
PCB18			
PCB19			
PCB28			
PCB38			
PCB44			
PCB46			
PCB52			
PCB66			
PCB77			
PCB81			
PCB101			
PCB105			
PCB118			
PCB126			
PCB128			
PCB138			
PCB153			
PCB156			
PCB169			
PCB170			
PCB172			
PCB180			
PCB182			
PCB187			
PCB192			
PCB195			
PCB206			
PCB209 (DCBP)			

Nella Tabella 5 sottostante vengono riportate le metodiche analitiche utilizzate, l'unità di misura e il limite di quantificazione per la determinazione dei singoli congeneri dei PCB ricercati nei sedimenti campionati oggetto della presente caratterizzazione.

### 2.1.6 Idrocarburi Totali

In Tabella 6 sono riportati il metodo utilizzato, l'unità di misura e il limite di quantificazione per la determinazione degli idrocarburi.

Tab. 6 Metodiche analitiche, unità di misura e limite di quantificazione

Parametro	Metodo	U.M.	LOQ
C<12	EPA 8015 C - 2000	µg/g p.s.	0,01
C>12	004 MPP Res218 Rev4 2007		

### 2.1.7 Composti organostannici

Nella Tabella 7 sottostante vengono riportate le metodiche analitiche utilizzate per la determinazione dei composti organostannici ricercati nei sedimenti campionati oggetto della presente caratterizzazione.

Tab. 7 Metodiche analitiche, unità di misura e limite di quantificazione

Parametro	Metodo	U.M.	LOQ
TBT e TPhT	AA.VV. 2001 – SEDIMENTI SCHEDA 7	ng/g p.s.	1,0

### 2.1.8 Pesticidi organoclorurati

Nella Tabella 8 sottostante vengono riportate le metodiche analitiche utilizzate, l'unità di misura e il limite di quantificazione per la determinazione dei singoli congeneri dei pesticidi ricercati nei sedimenti campionati oggetto della presente caratterizzazione.

Tab. 8 Metodiche analitiche, unità di misura e limite di quantificazione

Parametro	Metodo	U.M.	LOQ
HCB	EPA 8270D 1998	ng/g p.s.	0,1
4,4'-DDD			
4,4'-DDE			
4,4'-DDT			
Aldrin			
a-Chlordane			
g-Chlordane			
a-Lindane			
b-Lindane			
d-Lindane			
g-Lindane			
Dieldrin			
Endosulfan I			
Endosulfan II			
Endosulfan SO4			
Endrin			
Endrin aldeide			
Endrin chetone			
Heptachlor			
Heptachlor epossido			
Methoxychlor			

## 2.2 Analisi ecotossicologiche

### 2.2.1 Saggio biologico con *Vibrio fischeri*

*Vibrio fischeri* è un batterio marino Gram - negativo ed eterotrofo, appartenente alla famiglia delle *Vibrionaceae*. E' cosmopolita, ma con maggior diffusione nelle fasce temperate e subtropicali. Il sistema Microtox<sup>®</sup> è un test biologico di tossicità acuta basato sull'utilizzo della bioluminescenza naturale di questa specie. Poiché in presenza di contaminanti l'emissione di luce da parte di *V. fischeri* diminuisce, la misura dell'eventuale inibizione della bioluminescenza a seguito dell'esposizione del batterio ad una sostanza nota o ad un campione naturale di acqua o sedimento, consente di valutare il grado di tossicità della sostanza o della matrice saggata. Il sistema di misura risulta piuttosto versatile in quanto è applicabile a matrici naturali, sia continentali che marine, acquose (acqua potabile, acqua interstiziale, elutriato, ecc.) e solide (fanghi, suoli, sedimenti), nonché a soluzioni acquose di sostanze tossiche pure sia organiche sia inorganiche.

#### *Preparazione e conservazione dei campioni*

Per ogni campione di sedimento è stata analizzata la matrice elutriato, la quale fornisce indicazioni su quella frazione idrosolubile dei contaminanti, che per agitazione meccanica viene estratta in

acqua, e rappresenta la matrice più indicativa in caso di movimentazione dei fondali marini (USACE, 1991; Onorati e Volpi Ghirardini, 2001).

#### *Procedura adottata*

L'emissione della bioluminescenza è stata misurata all'interno del luminometro termostato M500, dotato di pozzetti termostati a 15°C per i controlli e i campioni e a 4°C per il reagente.

Per i campioni di elutriato è stato applicato il test per l'individuazione di una curva dose-effetto (Basic test, Azur Environmental, 1995) organizzato con 3 repliche del controllo e 7 diluizioni del campione a partire dal 90%, effettuando le letture dopo esposizione di 5, 15 e 30 minuti. Tale procedura è riconducibile al protocollo ISO (2006), specifico per batteri liofilizzati.

Inoltre il diluente standard (soluzione di NaCl al 3,5%) è stato sostituito con acqua di mare sintetica a 35 PSU, in quanto essa sintetica fornisce un ambiente osmotico e fisiologico più idoneo all'attività metabolica dei batteri (Onorati e Mecozzi, 2004) e consente di ottenere, pertanto, risultati più verosimili nello studio di ambienti marino-salmastri.

La relazione dose - risposta, ovvero concentrazione del campione-inibizione della bioluminescenza, è stata elaborata mediante un software dedicato (Microtox Omni™ v. 1.16), che consente di individuare l'EC<sub>50</sub> (o qualunque altra EC), ossia la concentrazione del campione cui corrisponde una riduzione della bioluminescenza pari al 50% o, in alternativa, la semplice variazione percentuale di emissione di luce rispetto al controllo.

Il campione è stato giudicato tossico quando la curva dose-risposta consente di individuare una EC<sub>20</sub> < 90%, secondo la Tabella 9, adottata anche nel DM/56 per la classificazione dei corpi idrici.

Tabella 9 Scale di tossicità acuta utilizzate nel saggio biologico mediante *Vibrio fischeri*

<b><i>Vibrio fischeri</i> fase solida</b>	<b><i>Vibrio fischeri</i> elutriato</b>	<b>Tossicità</b>
<b>S.T.I. ≤ 3</b>	EC <sub>20</sub> ≥ 90%	<b>ASSENTE/TRASCURABILE</b>
<b>3 &lt; S.T.I. ≤ 6</b>	EC <sub>20</sub> < 90% e EC <sub>50</sub> ≥ 90%	<b>MEDIA</b>
<b>6 &lt; S.T.I. ≤ 12</b>	20% ≤ EC <sub>50</sub> < 90%	<b>ELEVATA</b>
<b>S.T.I. &gt; 12</b>	EC <sub>50</sub> < 20%	<b>MOLTO ELEVATA</b>

#### **2.2.2 Saggio biologico con *Paracentrotus lividus***

L'affidabilità del riccio di mare come bioindicatore è riconosciuta a livello mondiale e già negli anni '80 i test di fecondazione e di sviluppo embrionale sono stati inclusi nella lista ICES (1997) dei test biologici più attendibili per il monitoraggio dell'inquinamento marino. Procedure standard per i test di fecondazione e di sviluppo embrionale sono state messe a punto per le specie della costa orientale (*Arbacia punctulata*, *Strongylocentrotus droebachiensis*) e per quelle della costa

occidentale (*Strongylocentrotus purpuratus*, *Strongylocentrotus droebachiensis*, *Dendraster excentricus*) degli Stati Uniti (USEPA, 1994, 1995, 2000; ASTM, 1995, 2004) e per il Canada (Environment Canada, 1992). In Italia, la specie autoctona *Paracentrotus lividus*, ha trovato applicazione in campo ecotossicologico in particolare per quanto riguarda lo studio degli effetti sulla fecondazione e sullo sviluppo embrionale (difetti nello sviluppo e aberrazioni mitotiche) di sostanze pure e di effluenti. In effetti, il saggio biologico con *P. lividus* può essere impiegato sia nella valutazione della qualità di matrici ambientali (acque e sedimenti marini) sia nella stima della tossicità di sostanze o preparati solubili in acqua di mare. In particolare, per quanto riguarda i sedimenti marini esso è compatibile con l'acqua interstiziale e l'elutriato.

#### *Matrici acquose testate*

La matrice ambientale soggetta alla valutazione ecotossicologica in questo saggio biologico è l'elutriato. L'elutriato fornisce informazioni su tutte quelle componenti estraibili in acqua. Quest'ultima rappresenta una delle matrici più indicative nello studio degli effetti della movimentazione dei fondali (ASTM, 1991; USACE, 1991) come nei dragaggi portuali, nei siti di discarica, ecc.

#### *Preparazione dell'elutriato*

L'elutriato è stato preparato in accordo con il protocollo standard US EPA (1991) combinando in peso quattro parti di acqua filtrata prelevata da una zona non contaminata con una parte di sedimento. Il tutto è stato messo ad agitare per 1 h a 400 giri/min. La fase liquida è stata quindi raccolta e centrifugata per 20 min a 3500 giri/min. Subcampioni di surnatante sono stati congelati e utilizzati nei vari test, in modo da impiegare sempre lo stesso campione nel corso dei vari esperimenti. Il congelamento infatti non sembra alterare in modo significativo le caratteristiche dei nutrienti ( $\text{NO}_3$  e  $\text{PO}_4$ ) della fase liquida (Clementson & Wayte, 1992) e uno studio condotto da Carr e Chapman (1995) ha permesso di verificare l'assenza di differenze significative tra la tossicità di campioni di matrici acquose appena estratte o congelate. Il congelamento è pertanto un passaggio indispensabile per garantire la confrontabilità fra i dati sperimentali, in quanto permette di stoccare adeguatamente i subcampioni rendendoli disponibili per la ripetizione del saggio in periodi diversi. L'elutriato viene testato sia non diluito (100%) che diluito ai valori di diluizione di 25%, 50% e 75%. In questo caso l'elutriato viene diluito sia con acqua di mare filtrata che con acqua ricostituita.

### *Raccolta degli organismi*

Per assicurare la maturità sessuale, i ricci di mare adulti vengono raccolti tra Settembre e Maggio (Fenaux, 1968). Esemplari adulti sono stati prelevati da fondali rocciosi del litorale di Livorno in una zona distante da fonti di inquinamento antropico (scarichi urbani e industriali).

Tutti i ricci (40-50) vengono raccolti ad una profondità tra 1 e 3 m. Gli animali raccolti sono stati posti in un contenitore di plastica e ricoperti con abbondante carta bibula umida per minimizzare lo stress da trasporto ed evitare così possibili emissioni di gameti. In laboratorio gli esemplari vengono posti in una camera termostata, in acquari di vetro contenenti acqua di mare raccolta nello stesso sito di campionamento e dotati di un sistema di areazione e di filtraggio (20-30 individui per 100 l di acqua). Periodicamente vengono controllati temperatura ( $16\pm 1^{\circ}\text{C}$ ), salinità (34‰ - 38‰), pH (7,8-8,2), ammoniaca e nitrati.

In questo modo i ricci sono mantenuti in condizioni stabili, almeno per una settimana.

### *Modalità di esecuzione del test di embriotossicità*

La fase vera e propria del test consiste nell'ottenere gli zigoti attraverso l'unione della sospensione spermatica (concentrazione desiderata) con la sospensione di uova in un rapporto spermatozoi:uova di 10:1. Lasciare il beaker a  $18\pm 1^{\circ}\text{C}$  e aspettare almeno 20 min affinché possa avvenire la fecondazione delle uova.

Il saggio di embriotossicità viene eseguito esponendo 1 mL di soluzione di uova fecondate a 10 mL della soluzione test in cella termostatica al buio a  $18^{\circ}\text{C}\pm 1$  per 72h.

Normalmente gli zigoti si sviluppano e raggiungono lo stadio larvale in 48h, ma il tempo di esposizione scelto per il test, garantisce che tutti gli zigoti raggiungano lo stadio di larva (pluteo) nel controllo negativo.

Il test viene fissato con 1 ml di formalina concentrata tamponata (cappa E-series 120 CASARIN).

La stima della percentuale di plutei normali avviene contando 100 larve. Per ottenere una stima più accurata degli effetti embriotossici, si distinguono le anomalie dello sviluppo distinguendo tra plutei malformati, cioè larve sviluppate ma che presentano malformazioni scheletriche e/o all'apparato digerente, e fasi pre-larvali di blastula, gastrula, prisma e pluteo precoce, che si sono bloccate prima del raggiungimento del completo sviluppo.

### *Elaborazione dei dati*

L'effetto della sostanza testata, di cui si vuole valutare la tossicità, viene rilevato dalla percentuale di uova non fecondate rispetto a un controllo di acqua di mare. Come abbiamo detto in precedenza, il test viene considerato accettabile se il tasso di fecondazione del controllo oscilla tra il 70%-90%. Applicando la formula di Abbott (Finney, 1971), la percentuale di uova non fecondate in ogni camera test viene confrontata e normalizzata rispetto al controllo.

$$\text{Abbott} = (X-Y)/(100-Y) \cdot 100$$

X=% di uova non fecondate nel campione da testare    Y=% di uova non fecondate nel controllo

I valori così ottenuti vengono impiegati in due elaborazioni differenti: per quanto riguarda i campioni, la loro eventuale tossicità viene valutata mediante il calcolo dell' EC20 e dell' EC50 ottenuti con lo specifico programma Tox Calc 5.0 mediante il metodo della Probit Analysis. I valori ottenuti vengono confrontati con la scala di tossicità riportata in Tab 2 ed il campione può essere valutato contaminato o non contaminato. La scala di tossicità riportata in Tabella 10 è elaborata a partire dalle indicazioni citate dal manuale APAT – ICRAM (2007).

Tab 10 Scala di tossicità

EC20/EC50	Tossicità
EC20 ≥ 90%	ASSENTE/TRASCURABILE
EC20 < 90% e EC50 > 100%	MEDIA
40% ≤ EC50 ≤ 100%	ALTA
EC50 < 40%	MOLTO ALTA

Per il rame, invece, i valori di EC50 vengono ottenuti utilizzando due metodi statistici differenti: il Trimmed Spearman-Kärber (Hamilton et al.,1978) e la Probit Analysis (Finney, 1971). Il valore dell'EC50 indica la concentrazione della sostanza di prova (Cu(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> x 3H<sub>2</sub>O (1000 mg/l)) che causa una riduzione della fecondazione del 50% rispetto a un controllo negativo.

### 2.2.3 Saggio biologico con *Corophium orientale*

*Corophium orientale* è un crostaceo appartenente al gruppo degli anfipodi. E' un organismo fossorio di acque salmastre, endemico del Mar Mediterraneo, impiegato con successo come specie target in ecotossicologia per la valutazione della tossicità dei sedimenti marini (Onorati *et al.*, 1999).

#### *Protocolli di riferimento e procedura adottata*

Il saggio è stato eseguito secondo le metodiche riportate in "ISO 2005. Water Quality - Determination of acute toxicity of marine or estuarine sediments to amphipods" e secondo quanto riportato in Bigongiari *et al.* (2001).

Gli organismi sono stati raccolti e selezionati in campo in base alla classe di taglia desiderata (2-4 mm). Per ogni campione sono state allestite 4 repliche. Circa 200 cc di sedimento da testare e circa 750 cc d'acqua di mare filtrata sono stati posti in contenitori becker da 1 litro. Dopo una opportuna ossigenazione, sono stati introdotti nei becker 25 organismi.

Il saggio biologico utilizzato nelle analisi ha durata di 28 giorni e l'endpoint preso in considerazione è la mortalità. La valutazione qualitativa dei sedimenti è stata effettuata tenendo conto della differenza matematica ( $\Delta m$ ) tra la mortalità ritrovata nel campione da saggiare e la mortalità nel controllo.

All'inizio e al termine dei test sono stati controllati alcuni parametri chimico-fisici (pH, temperatura, salinità e O<sub>2</sub> disciolto) fonti di possibili stress per gli organismi.

La sensibilità degli anfipodi è stata valutata determinando il valore di LC50 (concentrazione alla quale si verifica la morte del 50% degli individui) con il cloruro di cadmio. A tal fine gli organismi sono stati posti in soluzioni acquose a concentrazioni crescenti di CdCl<sub>2</sub> per 96 h, in assenza di sedimento. Il valore di LC50 e i relativi limiti di confidenza al 95% sono calcolati con il metodo Trimmed Spearman-Kärber.

Il saggio biologico a lungo termine è considerato valido quando nel sedimento di controllo la mortalità media è  $\Delta \leq 20\%$ . È stata calcolata la media della mortalità  $\pm$  la deviazione standard (espressa in %) nel periodo di esposizione considerato, sia nei sedimenti da testare che nel sedimento di controllo. I dati di mortalità di ogni campione sono quindi confrontati con quelli del sedimento di controllo.

La valutazione della tossicità è eseguita prendendo in considerazione la mortalità ritrovata nei campioni da saggiare corretta con la formula di Abbott ( $\Delta m$ ).

La scala adottata per la quantificazione della tossicità è riportata in Tabella 11.

Tab. 11 Scala di tossicità relativa al test a lungo termine con *Corophium orientale*

Mortalità corretta con Abbott	Tossicità
$M \leq 15\%$	ASSENTE/TRASCURABILE
$15\% < M \leq 30\%$	MEDIA
$30\% < M \leq 60\%$	ALTA
$M > 60\%$	MOLTO ALTA

### 2.3 Analisi microbiologiche

In Tabella 12 sono riportati le analisi condotte, il metodo utilizzato, l'unità di misura e il limite di quantificazione per la determinazione delle analisi microbiologiche.

Tab.12 Analisi microbiologiche

	Metodo	U.M.
<b>Coliformi fecali</b>	IRSA Q 64 III 3.2/83	UFC/g
<b>Salmonella spp</b>	IRSA Q 64 III 3.5/83	Presenza/25 g
<b>Spore di clostridi solfito riduttori</b>	IRSA Q 64 III 3.4/83	UFC/g
<b>Stafilococchi</b>	APHA 92132/92	UFC/ml
<b>Enterococchi fecali</b>	IRSA Q 64 III 3.3/83	UFC/g

### 3. RISULTATI

#### 3.1 Analisi fisico-chimiche

##### 3.1.1 Caratteristiche granulometriche

Nella Tabella 13 viene riportata una sinetesi dei risultati delle analisi granulometriche dei sedimenti campionati. Le schede granulometriche relative alle stazioni di campionamento sono riportate in *Appendice 2 – Schede granulometriche*.

Tab. 13 Granulometria dei sedimenti campionati

Campione	Ghiaia (%)	Sabbia (%)	Pelite (%)
<b>P1 0-50</b>	0,00	88,94	11,06
<b>P1 50-100</b>	0,18	85,33	14,49
<b>P1 100-150</b>	0,20	81,87	17,92
<b>P1 150-200</b>	0,22	80,13	19,65
<b>P2 0-50</b>	0,28	92,24	7,48
<b>P2 50-100</b>	0,85	82,36	16,79
<b>P2 100-150</b>	1,38	76,03	22,59
<b>P3 0-50</b>	0,20	94,06	5,74
<b>P3 50-100</b>	0,53	94,58	4,89
<b>P3 100-150</b>	0,80	94,73	4,47
<b>P4 0-50</b>	0,75	92,52	6,73
<b>P4 50-100</b>	0,82	93,02	6,16
<b>P5 0-50</b>	0,91	93,62	5,46
<b>P5 50-100</b>	0,71	95,16	4,13
<b>P6 0-50</b>	0,19	98,65	1,15
<b>P6 50-100</b>	0,17	93,15	6,68
<b>P7 0-50</b>	0,00	86,17	13,83
<b>P7 50-100</b>	0,36	85,15	14,49
<b>P7 100-150</b>	0,58	69,10	30,32
<b>P7 150-200</b>	0,36	73,81	25,83
<b>P8 0-50</b>	0,00	87,48	12,52
<b>P8 50-100</b>	0,25	85,69	14,06
<b>P8 100-150</b>	0,39	83,72	15,89
<b>P8 150-200</b>	0,53	83,65	15,82

In tutti i campioni analizzati la frazione granulometrica preponderante risulta essere quella sabbiosa. La ghiaia risulta scarsamente rappresentata in tutti i campioni, mentre la pelite è presente in percentuale maggiore al 10% in tutti i livelli delle catore P1, P2, P7 e P8, non superando comunque il 30%.

La distribuzione delle differenti frazioni sabbiose (Appendice 2) evidenzia per i campioni superficiali un maggior peso delle frazioni fini (125 e 63  $\mu\text{m}$ ) rispetto ad una ripartizione più equilibrata presente negli strati profondi in cui sono rappresentate anche frazioni più grossolane.

### 3.1.2 Descrizione macroscopica dei sedimenti

Nella Tabella 14 è riportata la descrizione macroscopica dei sedimenti effettuata in campo al momento della preparazione delle aliquote di campione.

Tab. 14 Granulometria dei sedimenti campionati

Campione	Tipologia di sedimento	Colore	Odore	Grado di idratazione	Residui
<b>P1 0-50</b>	Sabbia fine	marroncino	si	alto	alghe nei primi 5 cm
<b>P1 50-100</b>	Sabbia fine	grigio	si	medio	no
<b>P1 100-150</b>	Sabbia fine	grigio	no	medio	no
<b>P1 150-200</b>	Sabbia fine	grigio	no	medio-basso	no
<b>P2 0-50</b>	Sabbia fine	marroncino	si	alto	no
<b>P2 50-100</b>	Sabbia fine	grigio	si	medio	no
<b>P2 100-150</b>	Sabbia fine	grigio	no	medio	no
<b>P3 0-50</b>	Sabbia fine	grigio	no	medio-basso	no
<b>P3 50-100</b>	Sabbia fine	grigio	no	medio-basso	no
<b>P3 100-150</b>	Sabbia fine	grigio	no	medio-basso	no
<b>P4 0-50</b>	Sabbia fine	grigio	si	medio	no
<b>P4 50-100</b>	Sabbia fine	grigio	no	medio-basso	no
<b>P5 0-50</b>	Sabbia fine	grigio	no	medio	no
<b>P5 50-100</b>	Sabbia fine	grigio	no	medio-basso	no
<b>P6 0-50</b>	Sabbia fine	marroncino	si	alto	no
<b>P6 50-100</b>	Sabbia fine	marroncino	si	alto	no
<b>P7 0-50</b>	Sabbia fine	grigio	no	medio	no
<b>P7 50-100</b>	Sabbia fine	grigio	si	medio	si
<b>P7 100-150</b>	Sabbia fine	grigio	no	medio	no
<b>P7 150-200</b>	Sabbia fine	grigio	no	medio	no
<b>P8 0-50</b>	Sabbia fine	grigio	no	medio	no
<b>P8 50-100</b>	Sabbia fine	grigio	si	alto	no
<b>P8 100-150</b>	Sabbia fine	grigio	no	medio	no
<b>P8 150-200</b>	Sabbia fine	grigio	no	medio	no

### 3.1.3 Metalli e Sostanza organica

Nella tabella 15 sono riportati i risultati dell'analisi dei metalli e della sostanza organica nei sedimenti prelevati nell'area d'indagine.

Tab. 15 Risultati delle analisi dei metalli nei sedimenti (espressi in mg/kg, ad eccezione di dove espressamente indicato)

CAMPIONE	S.O. (%)	Al	As	Cd	Ba	Cr	Cu	Fe	Hg	Ni	Pb	V	Zn
<b>P1 0-50</b>	0,66	6054,88	7,62	0,005	18,59	5,37	3,20	4769,63	0,019	3,76	12,35	14,29	22,62
<b>P1 100-150</b>	1,45	11669,50	10,18	0,045	48,84	10,55	13,65	7946,44	0,059	10,40	25,10	22,59	47,64
<b>P2 0-50</b>	0,65	7034,68	7,89	0,027	22,04	5,74	2,84	5344,22	0,018	2,31	9,35	16,31	23,48
<b>P2 100-150</b>	1,76	15939,40	9,76	0,054	82,22	42,05	9,90	9175,05	0,073	6,17	25,00	27,34	51,12
<b>P3 0-50</b>	0,60	7854,92	5,72	0,010	22,19	5,96	2,98	5676,84	0,019	3,52	9,08	17,14	24,74
<b>P3 100-150</b>	0,65	5050,60	5,85	0,050	8,06	5,57	2,91	5258,99	0,017	2,52	8,94	14,18	26,09
<b>P4 0-50</b>	0,62	8011,00	6,25	0,023	22,32	6,26	3,38	5962,10	0,019	2,88	9,76	17,86	26,39
<b>P5 0-50</b>	0,58	5578,82	6,13	0,027	10,76	7,30	3,14	5700,76	0,032	3,22	9,39	15,45	34,91
<b>P6 0-50</b>	0,49	3203,48	7,06	0,008	6,84	4,26	1,60	3964,14	0,010	1,71	6,16	10,69	22,49
<b>P7 0-50</b>	1,24	9758,22	9,79	0,051	35,80	14,21	7,29	8974,69	0,042	6,77	19,95	23,33	59,78
<b>P7 100-150</b>	1,69	11087,60	10,09	0,085	44,61	14,11	12,69	9000,19	0,064	6,50	25,58	22,69	57,56
<b>P8 0-50</b>	0,96	7810,22	9,49	0,034	27,71	13,85	5,57	7247,90	0,039	4,79	16,14	19,86	40,98
<b>P8 100-150</b>	1,54	9479,07	8,76	0,063	38,24	12,60	7,60	7763,98	0,054	5,34	22,12	19,68	50,06

La concentrazione di tutti i metalli risulta inferiore al valore dell'LCB riportato nel "Manuale per la movimentazione dei sedimenti marini" (ICRAM-APAT, 2007) in tutti i campioni analizzati, rispetto al contenuto di pelite presente.

### 3.1.4 Azoto e fosforo totali

Nella tabella 16 sono riportati i risultati dell'analisi di azoto e fosforo totali nei sedimenti prelevati nell'area d'indagine.

Tab. 16 Risultati delle analisi di azoto e fosforo nei sedimenti (mg/Kg s.s.)

Campione	Azoto	Fosforo
<b>P1 0-50</b>	<LOQ	182±55
<b>P1 100-150</b>	<LOQ	275±83
<b>P2 0-50</b>	<LOQ	170±51
<b>P2 100-150</b>	<LOQ	298±90
<b>P3 0-50</b>	<LOQ	183±55
<b>P3 100-150</b>	<LOQ	175±53
<b>P4 0-50</b>	<LOQ	183±55
<b>P5 0-50</b>	<LOQ	182±55
<b>P6 0-50</b>	<LOQ	139±42
<b>P7 0-50</b>	<LOQ	258±77
<b>P7 100-150</b>	<LOQ	309±93
<b>P8 0-50</b>	<LOQ	245±74
<b>P8 100-150</b>	<LOQ	206±62

I valori di azoto risultano in tutti i campioni al di sotto del limite di quantificazione, mentre i valori di fosforo risultano compatibili rispetto a quelli rilevati in altre aree costiere.

### 3.1.5 IPA

Nella tabella 17 sono riportati i risultati delle analisi degli IPA determinati nei sedimenti prelevati nelle stazioni di campionamento.

Tab. 17 Risultati delle analisi degli IPA (ng/g p.s.) nei sedimenti campionati

IPA	P1 0-50	P1 100-150	P2 0-50	P2 100-150	P3 0-50	P3 100-150	P4 0-50	P5 0-50	P6 0-50	P7 0-50	P7 100-150	P8 0-50	P8 100-150
Naftalene	37,49	40,25	40,25	53,05	26,16	34,27	9,39	39,16	41,62	43,34	50,71	38,64	42,62
1-Me Naftalene	5,34	5,32	5,32	6,19	1,91	3,11	2,76	4,45	4,40	3,48	6,91	3,51	2,42
2-Me Naftalene	4,87	5,30	5,30	7,13	2,75	2,85	2,12	4,80	5,31	3,04	6,45	3,41	3,00
Acenaftene	0,68	0,44	0,44	0,57	0,53	0,17	0,17	0,26	0,33	0,09	0,90	0,18	0,06
Fluorene	0,08	0,18	0,18	0,26	2,28	0,14	1,26	0,16	0,12	0,06	0,17	0,12	0,08
Fenantrene	2,69	11,76	11,76	10,26	6,48	2,77	1,77	2,40	2,33	2,99	3,61	3,72	2,73
Antracene	0,04	0,01	0,01	0,14	1,31	0,07	0,02	0,05	0,04	0,01	0,05	0,01	0,01
Fluorantene	0,10	0,59	0,59	0,45	6,01	0,32	0,12	0,10	0,31	0,14	0,37	0,56	0,02
Pirene	0,11	0,12	0,12	0,02	0,38	0,14	0,94	0,01	0,03	0,02	0,16	0,12	0,04
Benzo(a)antracene	0,00	0,17	0,17	0,07	0,00	0,00	0,06	0,00	0,01	0,02	0,03	0,27	0,06
Crisene	0,03	0,19	0,19	0,14	1,88	0,13	0,17	0,05	0,03	0,01	0,08	0,03	0,01
7,12-DMBA	< 0,01	0,02	0,02	0,01	0,02	< 0,01	< 0,01	0,01	0,01	0,01	0,03	0,01	< 0,01
Benzo(b)fluorantene*	0,17	0,17	0,17	0,11	0,55	0,12	0,03	0,01	0,03	0,03	1,16	0,44	0,02
Benzo(k)fluorantene*	0,02	0,13	0,13	0,09	0,41	0,07	0,02	0,02	0,03	0,01	0,07	0,08	0,01
Benzo(a)pirene	0,23	0,18	0,18	0,10	0,52	0,10	0,03	0,03	0,03	0,04	1,20	0,10	0,04
Dibenzo(a,h)antracene	0,32	0,02	0,02	0,01	0,27	0,11	0,03	0,01	0,01	< 0,01	1,45	0,01	0,01
Benzo(g,h,i)perilene*	0,52	0,37	0,37	0,12	0,57	0,17	0,04	< 0,01	0,02	< 0,01	0,04	0,02	0,06
Indeno(1,2,3-cd)pirene*	0,02	0,01	0,01	0,02	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,02
$\Sigma$ -PAH BPM	40,98	52,64	52,64	64,28	36,76	37,42	12,62	42,03	44,43	46,49	55,44	42,66	45,50
$\Sigma$ -PAH APM	1,51	1,95	1,95	1,13	10,59	1,18	1,44	0,24	0,52	0,27	4,56	1,66	0,30
$\Sigma$ -MePAHs	10,21	10,63	10,63	13,33	4,68	5,96	4,88	9,26	9,73	6,54	13,39	6,93	5,42
$\Sigma$ -PAHs	<b>52,70</b>	<b>65,22</b>	<b>65,22</b>	<b>78,74</b>	<b>52,03</b>	<b>44,56</b>	<b>18,94</b>	<b>51,54</b>	<b>54,68</b>	<b>53,29</b>	<b>73,39</b>	<b>51,25</b>	<b>51,22</b>

\* sostanze pericolose prioritarie secondo il manuale ICRAM-APAT (2006)

Le concentrazioni degli IPA risultano inferiori al valore dell'LCB riportato nel "Manuale per la movimentazione dei sedimenti marini" (ICRAM-APAT, 2007) in tutti i campioni.

### 3.1.6 PCB

Nelle Tabella 18 sono riportati i risultati delle analisi dei PCB determinati nei sedimenti delle stazioni di campionamento.

Tab. 18 Risultati dei PCB (ng/g p.s.)

PCB	P1 0-50	P1 100-150	P2 0-50	P2 100-150	P3 0-50	P3 100-150	P4 0-50	P5 0-50	P6 0-50	P7 0-50	P7 100-150	P8 0-50	P8 100-150
PCB8	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5
PCB18	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5
PCB28	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5
PCB44	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5
PCB52	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5
PCB66	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5
PCB77	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5
PCB101	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5
PCB105	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5
PCB118	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5
PCB126	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5
PCB128	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5
PCB138	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5
PCB153	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5
PCB170	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5
PCB180	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5
PCB187	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5
PCB195	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5
PCB206	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5
PCB209 (DCBP)	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5
Σ-PCBs	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5

Le concentrazioni dei PCB risultano inferiori al limite di rilevabilità della metodica in tutti i campioni.

### 3.1.7 Idrocarburi

Nella tabella 19 sono riportati i risultati degli idrocarburi determinati nei sedimenti delle stazioni di campionamento.

Tab. 19 Risultati delle analisi degli idrocarburi alifatici e volatili nei sedimenti campionati (µg/g p.s.)

Campione	C<12	C>12
P1 0-50	< 0,01	25,34
P1 100-150	< 0,01	6,86
P2 0-50	< 0,01	24,03
P2 100-150	< 0,01	23,38
P3 0-50	< 0,01	9,65
P3 100-150	< 0,01	5,56
P4 0-50	< 0,01	21,77
P5 0-50	< 0,01	18,00
P6 0-50	< 0,01	12,03
P7 0-50	< 0,01	9,51
P7 100-150	< 0,01	15,91
P8 0-50	< 0,01	15,82
P8 100-150	< 0,01	15,92



g-Lindane	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
Dieldrin	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
Endosulfan I	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
Endosulfan II	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
Endosulfan SO4	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
Endrin	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
Endrin aldeide	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
Endrin chetone	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
Heptachlor	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
Heptachlor epossido	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
Methoxychlor	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1

Le concentrazioni dei pesticidi risultano inferiori al limite di rilevabilità in tutti i campioni.

## 3.2 Analisi ecotossicologiche

### 3.2.1 Saggio biologico con *Vibrio fischeri*

Tabella 22 Risultati del saggio biologico Microtox® applicato all'elutriato

Campione	Incubazione	EC20 (%)	Massimo effetto (%)	Media ± d.s. (%)	Livello Tossicità
P 1 0-50	5'	> 90	1,483	2,27 ± 0,70	ASSENTE
	15'	> 90	2,525		
	30'	> 90	2,805		
P 1 100-150	5'	> 90	1,866	2,34 ± 2,10	ASSENTE
	15'	> 90	0,516		
	30'	> 90	4,630		
P 2 0-50	5'	> 90	3,095	3,56 ± 0,49	ASSENTE
	15'	> 90	4,079		
	30'	> 90	3,495		
P 2 100-150	5'	> 90	2,959	2,92 ± 1,52	ASSENTE
	15'	> 90	1,389		
	30'	> 90	4,420		
P 3 0-50	5'	> 90	0,527	1,25 ± 0,76	ASSENTE
	15'	> 90	2,033		
	30'	> 90	1,179		
P 3 100-150	5'	> 90	4,369	3,83 ± 0,47	ASSENTE
	15'	> 90	3,529		
	30'	> 90	3,597		
P 4 0-50	5'	> 90	1,079	1,29±0,19	ASSENTE
	15'	> 90	1,337		
	30'	> 90	1,445		
P 5 0-50	5'	> 90	3,219	3,82 ± 1,02	ASSENTE
	15'	> 90	3,240		
	30'	> 90	4,992		
P 6 0-50	5'	> 90	3,144	5,45 ± 2,20	ASSENTE
	15'	> 90	5,676		
	30'	> 90	7,520		
P 7 0-50	5'	> 90	3,060	3,88 ± 1,94	ASSENTE
	15'	> 90	2,473		
	30'	> 90	6,095		
P 7 100-150	5'	> 90	6,889	8,92 ± 2,81	ASSENTE
	15'	> 90	7,741		
	30'	> 90	12,13		
P 8 0-50	5'	> 90	3,070	3,48 ± 1,06	ASSENTE
	15'	> 90	2,690		
	30'	> 90	4,682		
P 8 100-150	5'	> 90	0,477	-1,08 ± 7,86	ASSENTE
	15'	> 90	-9,597		
	30'	> 90	5,880		

Nella Tabella 22 sono riportati i risultati del saggio biologico con il batterio *Vibrio fischeri* applicato all'elutriato.

Le variazioni di bioluminescenza riscontrate in tutti i campioni analizzati possono essere considerate nell'ambito della naturale variabilità misurabile anche nei controlli. Pertanto essi possono essere considerati privi di tossicità acuta.

### 3.2.2 Saggio biologico con *Paracentrotus lividus*

Nella tabella 23 sono illustrati i risultati del saggio biologico di sviluppo con l'echinoderma *Paracentrotus lividus* applicato all'elutriato.

Tab. 23 Risultati del saggio sviluppo con *P. lividus*

Campione	Diluizione	% normoformati	SD	EC20/EC50	Tossicità
<b>CONT</b>		87,33	1,15	-	-
<b>P 1 0-50</b>	100	80,33	1,53	EC20>90	<b>ASSENTE</b>
	50	81,33	1,53		
	25	82,67	0,58		
<b>P 1 100-150</b>	100	84,33	2,31	EC20>90	<b>ASSENTE</b>
	50	84,00	1,00		
	25	83,67	2,31		
<b>P 2 0-50</b>	100	84,33	1,53	EC20>90	<b>ASSENTE</b>
	50	84,33	2,08		
	25	84,67	2,08		
<b>P 2 100-150</b>	100	80,33	1,53	EC20>90	<b>ASSENTE</b>
	50	81,33	1,15		
	25	82,67	1,53		
<b>P 3 0-50</b>	100	80,67	0,58	EC20>90	<b>ASSENTE</b>
	50	82,33	0,58		
	25	83,67	1,53		
<b>P 3 100-150</b>	100	61,67	2,52	EC20=59,86;EC50>100	<b>MEDIA</b>
	50	73,00	1,00		
	25	82,00	2,00		
<b>P 4 0-50</b>	100	61,33	1,53	EC20=63,86;EC50>100	<b>MEDIA</b>
	50	73,00	2,00		
	25	80,00	1,00		
<b>P 5 0-50</b>	100	58,00	2,65	EC20=61,06;EC50>100	<b>MEDIA</b>
	50	75,67	1,53		
	25	81,67	1,53		
<b>P 6 0-50</b>	100	49,00	3,00	EC20=46,90;EC50>100	<b>MEDIA</b>
	50	66,33	2,08		
	25	83,00	1,00		

<b>P 7 0-50</b>	100	81,00	1,00	EC20>90	<b>ASSENTE</b>
	50	81,67	0,58		
	25	81,67	1,53		
<b>P 7 100-150</b>	100	79,00	2,00	EC20>90	<b>ASSENTE</b>
	50	82,00	1,00		
	25	81,67	1,15		
<b>P 8 0-50</b>	100	88,00	1,00	EC20>90	<b>ASSENTE</b>
	50	87,33	1,53		
	25	86,67	1,53		

Il valore di EC50 ottenuto con il tossico di riferimento ( $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ) è risultato pari a 57,81  $\mu\text{g/l}$  (56,13 - 59,54). Tale valore risulta all'interno della carta di controllo del laboratorio (22,60  $\mu\text{g/l}$  - 68,34  $\mu\text{g/l}$ ).

I risultati del saggio di embriotossicità hanno evidenziato la presenza di tossicità media nei campioni P3 100-150 e nel livello superficiali delle stazioni P4, P5 e P6. I restanti campioni sono risultati privi di tossicità.

### 3.2.3 Saggio biologico con *Corophium orientale*

Nella Tabella 24 sono riportati i risultati del saggio a lungo termine con *C. orientale* condotto sui sedimenti delle stazioni di campionamento.

Tab. 24 Risultati del saggio a lungo termine con *Corophium orientale*

Campioni	% Mortalità corretta con Abbott	Tossicità
<b>P1 0-50</b>	-5,56	<b>ASSENTE</b>
<b>P1 100-150</b>	29,17	<b>MEDIA</b>
<b>P2 0-50</b>	12,50	<b>ASSENTE</b>
<b>P2 100-150</b>	27,78	<b>MEDIA</b>
<b>P3 0-50</b>	13,89	<b>ASSENTE</b>
<b>P3 100-150</b>	30,56	<b>MEDIA</b>
<b>P4 0-50</b>	12,50	<b>ASSENTE</b>
<b>P5 0-50</b>	13,89	<b>ASSENTE</b>
<b>P6 0-50</b>	15,28	<b>MEDIA</b>
<b>P7 0-50</b>	35,42	<b>ALTA</b>
<b>P7 100-150</b>	33,33	<b>MEDIA</b>
<b>P8 0-50</b>	13,89	<b>MEDIA</b>
<b>P8 100-150</b>	30,56	<b>MEDIA</b>

I parametri salinità, T, pH e %O di ogni campione, rilevati all'inizio e alla fine del saggio, risultano congrui con quelli suggeriti dal protocollo "ISO 2005. Water Quality - Determination of acute toxicity of marine or estuarine sediments to amphipods".

La sensibilità degli animali impiegata è stata valutata calcolando il valore dell'LC50 utilizzando il  $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  come sostanza tossica di riferimento. Il valore di LC50 di 2,63 mg/l (limiti inferiore

e superiore 2,24 – 3,10) ottenuto risulta in accordo con quanto riportato in letteratura per questa specie e cade nell'intervallo della carta di controllo del laboratorio.

Il saggio con *C. orientale* ha evidenziato una tossicità media per i campioni profondi delle carote P1, P2, P3, P7 e P8 e per i superficiali di P6, P7 e P8, inoltre è stata rilevata una tossicità alta per il campione P7 0-50.

La ridotta quantità di sostanza organica (s.o.<1%), frequente nei sedimenti costituiti prevalentemente da sabbie (frazione sabbiosa 70 ÷ 95 %) come quelli presenti nell'area di indagine, ha probabilmente compromesso la sopravvivenza degli organismi test, falsando il dato della mortalità (falsi positivi) che rappresenta l'endpoint del saggio con *C. orientale*. I risultati delle analisi chimiche, che non hanno messo in evidenza alcun valore anomalo, ed i risultati degli altri saggi danno supporto a questa ipotesi.

### 3.3 Microbiologia

Nella Tabella 25 sono riportati i risultati delle analisi microbiologiche sui sedimenti delle stazioni di campionamento che non mostrano alcuna particolarità.

Tab. 25 - Risultati della microbiologia

Campione	<i>Stafilococchi patogeni</i> (UFC/ml)	Coliformi fecali (UFC/g)	Streptococchi fecali (UFC/g)	Spore di clostridi solfito riduttori (UFC/g)	Salmonella spp. (presenza/25g)
<b>P1 0-50</b>	3	<10	<10	20	Assenti
<b>P2 0-50</b>	0	<10	<10	<10	Assenti
<b>P3 0-50</b>	1	<10	<10	<10	Assenti
<b>P4 0-50</b>	0	<10	<10	<10	Assenti
<b>P5 0-50</b>	0	<10	<10	<10	Assenti
<b>P6 0-50</b>	2	<10	<10	10	Assenti
<b>P7 0-50</b>	0	<10	<10	<10	Assenti
<b>P8 0-50</b>	0	<10	<10	30	Assenti

#### 4. CLASSIFICAZIONE INTEGRATA DEI MATERIALI E CONCLUSIONI

L' integrazione delle informazioni relative alle caratteristiche fisiche, chimiche ed ecotossicologiche ha portato alla classificazione dei materiali riportata in tabella 26.

Tab 26 Classificazione integrata dei materiali.

Campioni	Classificazione
P1 0-50	A2
P1 100-150	A2
P2 0-50	A1
P2 100-150	A2
P3 0-50	A1
P3 100-150	A2
P4 0-50	A2
P5 0-50	B2
P6 0-50	A2
P7 0-50	A2
P7 100-150	A2
P8 0-50	A2
P8 100-150	A2

Nella Tabella 27 sono riportate le diverse classi di qualità dei materiali, all'interno delle quali le opzioni di gestione sono riportate in ordine di priorità di utilizzo.

Tabella 27 - Classi di qualità dei materiali e relative opzioni di gestione in ordine di priorità di utilizzo

Classe	Opzioni di gestione
A1	<p>Sabbie (pelite &lt; 10%)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Ripascimento della spiaggia emersa;</b></li> <li>• Ricostruzione di strutture naturali in ambito marino costiero comprese le deposizioni finalizzate al ripristino della spiaggia sommersa;</li> <li>• Riempimenti di banchine e terrapieni in ambito portuale;</li> <li>• Riutilizzi a terra;</li> <li>• Spostamento in ambiente sommerso;</li> <li>• Deposizione in bacini di contenimento;</li> <li>• Immersione in aree marine non costiere.</li> </ul>
A2	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ricostruzione di strutture naturali in ambito marino costiero compresa la deposizione finalizzata al ripristino della <b>spiaggia sommersa</b> (solo nel caso di prevalente composizione sabbiosa) salvo diverse disposizioni di cui alla normativa regionale.</li> <li>• Riempimenti di banchine e terrapieni in ambito portuale;</li> <li>• Riutilizzi a terra;</li> <li>• Spostamento in ambiente sommerso;</li> <li>• Deposizione in bacini di contenimento;</li> <li>• Immersione in aree marine non costiere.</li> </ul>
B1	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Riutilizzi a terra;</li> <li>• Spostamento in ambiente sommerso;</li> <li>• Deposizione in bacini di contenimento che assicurino il trattenimento di tutte le frazioni granulometriche del sedimento sugli argini laterali (incluso il riempimento di banchine).</li> </ul>
B2	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Riutilizzi a terra;</li> <li>• <b>Deposizione all'interno di bacini di contenimento</b> che assicurino il trattenimento di tutte le frazioni granulometriche dei materiali sugli argini laterali e sul fondo.</li> </ul>

Classe	Opzioni di gestione
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Smaltimento presso discarica a terra.</li> </ul>
<b>C1</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Rimozione in sicurezza che limiti l'eventuale diffusione della contaminazione e operazioni di recupero;</li> <li>• Rimozione in sicurezza e deposizione in bacini di contenimento che assicuri il trattenimento di tutte le frazioni granulometriche dei materiali sugli argini laterali e sul fondo.</li> <li>• Rimozione in sicurezza e smaltimento alternativo</li> </ul>
<b>C2</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Materiale la cui rimozione e gestione deve essere sottoposta a procedure di particolare cautela ambientale</li> </ul>

Alla luce dei risultati ottenuti, la gran parte dei sedimenti dell'area è da considerarsi di buona qualità ambientale con prevalente presenza di sabbie.

Si evidenzia un unico dato (l'altro è trascurabile) di contaminazione puntiforme dovuto molto probabilmente allo sversamento di materiali contenenti composti antivegetativi; uno sversamento recente, interessa infatti il solo livello superficiale della subarea P5, e comunque da ritenersi occasionale, in definitiva non ripetuto né nello spazio né nel tempo.

Si suggerisce quindi di destinare lo strato superficiale dell'area P5 al riempimento di un bacino conterminato, prudentemente impermeabilizzato, evitando di disperdere eventuali frazioni di sedimento che potrebbero diffondere la contaminazione evidenziata. A questo proposito, se possibile, la tipologia di dragaggio potrebbe essere anche di tipo meccanico e attuata prima del restante materiale. E' comunque necessario effettuare un monitoraggio delle varie fasi di dragaggio.

Il restante materiale, se pure presenti talvolta lievi evidenze di tossicità a lungo termine dell'elutriato, è da ritenersi una risorsa da riutilizzare come riempimento di banchine o per ripascimenti di spiagge sommerse, prevedendo, anche in questo caso, una minima attività di monitoraggio da concordare con l'Ente competente per il rilascio dell'autorizzazione.



## 5. BIBLIOGRAFIA CITATA E/O DI CONSULTAZIONE

- AA.VV. (2001). Metodologie analitiche di riferimento. Programma di monitoraggio per il controllo dell'ambiente marino-costiero (triennio 2001-2003). A.M. Cicero & I. Di Girolamo (Eds), Ministero Ambiente e Territorio – ICRAM.
- Azur Environmental (1995a). Microtox® Acute Toxicity Comparison & Inhibition Test, 30 pp.
- Azur Environmental (1995b). Microtox® Acute Toxicity Solid-Phase Test, 20 pp.
- Bigongiari N., Braida T., Pasteris A. (2001). Saggio biologico con l'anfipode *Corophium orientale*: metodiche ed esempi di applicazione ai sedimenti marini. *Biol. Mar. Medit.*, 8(2): 60-71.
- ICRAM-APAT (2007). Manuale per la movimentazione dei sedimenti marini.  
(consultabile sul web all'indirizzo [www.isprambiente.it](http://www.isprambiente.it))
- ISO (2006). Water quality: determination of the inhibitory effect of water samples on the light emission of *Vibrio fischeri* (luminescent bacteria test) – part 3: method using freeze-dried bacteria. ISO/CD 11348-3.
- ISO (2005). Water Quality: Determination of acute toxicity of marine or estuarine sediments to amphipods". ISO method 16712.
- ASTM (1995). Standard guide for conducting static acute toxicity tests with echinoid embryos- E 1563-95. pp. 1029-1046. American Society for Testing and Materials, Philadelphia, pp. 1029-1046.
- ASTM (2004). Standard guide for conducting static acute toxicity tests with echinoid embryos- E 1563-98. American Society for Testing and Materials, Philadelphia.
- Clementson L. A. and Wayte S. E. (1992). The effects of frozen storage of open-ocean seawater sample on the concentration of dissolved Phosphate and Nitrate. *Wat. Res.* 26 (9), 1171-1176.
- Environment Canada (1992). Biological test method: fertilization assay using Echinoids (sea urchins and sand dollars. Environmental Protection Series. EPS 1/RM/27, Ottawa, Canada.
- USACE 1991
- US EPA (1991). Early-Standard Operating Procedure Conducting the Sea Urchin *Arbacia punctulata* Fertilization Test. Environmental Research Laboratory, Narragansett, RI, pp 125-131.
- US EPA (1994). Short-Term Methods for Estimating the Chronic Toxicity of Effluents and Receiving Water to Marine and Estuarine Organism. 600-4-91-003, Cincinnati, Ohio.

US EPA. Chapman, G.A., Denton, D.L., & Lazorchak, J.M. (1995). Short-term methods for estimating the chronic toxicity of effluents and receiving water to West Coast marine and estuarine organisms. U.S. EPA, 600/R-95/136, Cincinnati, Ohio.

Finney L. (1971). Probit Analysis. Cambridge University Press, London, UK.

Hamilton M. A., Russo R. C, Thurston R. V. (1978). Trimmed Spearman-Kärber method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays. Environ. Sci. Technol. 12, 714-720.



**Università Politecnica delle Marche-Ancona**  
*Dipartimento di Scienze della Vita e dell'Ambiente (DiSVA)*

## **Valutazione della qualità dei sedimenti dell'avamposto est del Porto Canale di Cagliari finalizzata ad attività di dragaggio**



**Responsabile scientifico:** Prof. Francesco Regoli (DiSVA)

**Collaboratori DiSAV:** Daniele Fattorini, Marta De Carlo, Alessandra Notti, Maura Bendetti, Stefania Gorbi, Raffaella Bocchetti

**Collaboratori ISPRA:** **David Pellegrini**, Simona Macchia, Alice Scuderi, Andrea Gaion, Margherita Secci, Lorenzo Morroni, Fabiano Pilato, Fulvio Onorati, Gianluca Chiaretti

**Luglio 2011**

# INDICE

<b>PREMESSA.....</b>	<b>3</b>
<b>1. ATTIVITA' DI CAMPIONAMENTO.....</b>	<b>4</b>
<b>2. MATERIALI E METODI DI ANALISI.....</b>	<b>5</b>
2.1 ANALISI FISICO-CHIMICHE.....	5
2.1.1 Caratteristiche granulometriche .....	5
2.1.2 Azoto e fosforo totali.....	5
2.1.3 Sostanza organica e metalli.....	5
2.1.4 Idrocarburi policiclici aromatici (IPA) .....	7
2.1.5 Policlorobifenili (PCB) e pesticidi organoclorurati .....	8
2.1.6 Idrocarburi alifatici .....	10
2.1.7 Composti organostannici .....	101
2.2 ANALISI ECOTOSSICOLOGICHE .....	12
2.2.1 Saggio biologico con <i>Vibrio fischeri</i> .....	12
2.2.2 Saggio biologico con <i>Paracentrotus lividus</i> .....	14
2.2.3 Saggio biologico con <i>Acartia tonsa</i> .....	16
2.3 ANALISI MICROBIOLOGICHE.....	17
<b>3. RISULTATI.....</b>	<b>18</b>
3.1 ANALISI FISICO-CHIMICHE.....	18
3.1.1 Caratteristiche granulometriche .....	18
3.1.2 Descrizione macroscopica dei sedimenti .....	19
3.1.3 Azoto e fosforo totali.....	19
3.1.4 Sostanza organica e metalli.....	20
3.1.5 Idrocarburi policiclici aromatici (IPA) .....	21
3.1.6 Policlorobifenili (PCB) e pesticidi organoclorurati .....	22
3.1.7 Idrocarburi alifatici .....	23
3.1.8 Composti organostannici .....	24
3.2 ANALISI ECOTOSSICOLOGICHE.....	25
3.2.1 Saggio biologico con <i>Vibrio fischeri</i> .....	25
3.2.2 Saggio biologico con <i>Paracentrotus lividus</i> .....	26
3.2.3 Saggio biologico con <i>Acartia tonsa</i> .....	27
3.3 ANALISI MICROBIOLOGICHE.....	27
<b>4. CLASSIFICAZIONE INTEGRATA DEI MATERIALI E CONCLUSIONI .....</b>	<b>28</b>
<b>5. BIBLIOGRAFIA CITATA.....</b>	<b>31</b>
<b>APPENDICE 1 – Schede granulometriche.....</b>	<b>33</b>

## PREMESSA

Oggetto della presente relazione sono i risultati della caratterizzazione di campioni di sedimento marino provenienti dall'area dell'avamposto est del Porto Canale di Cagliari. Le indagini effettuate hanno tenuto conto delle prescrizioni del D.M. 24 gennaio 1996 del Ministero dell'Ambiente, integrate dalle indicazioni riportate nel "*Manuale per la movimentazione dei sedimenti marini*" del Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare redatto da ICRAM ed APAT (2007).

Per quanto riguarda le attività analitiche sono state considerate le indicazioni e i suggerimenti proposti nel quaderno "*Metodologie analitiche di riferimento*" redatto dal Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare in collaborazione con ICRAM e ANPA (AA.VV, 2001).

La classificazione dei materiali analizzati è stata elaborata secondo i criteri indicati nel Manuale ICRAM-APAT (2007) per la gestione ambientale dei sedimenti da movimentare, recentemente confermati negli Allegati Tecnici in riferimento all'art. 109 del D.Lgs. 152/06, riportante i criteri da osservare per il rilascio della autorizzazione alla immersione deliberata in mare dei materiali di escavo di fondali marini o salmastri o di terreni litoranei emersi, nonché le modalità per la esclusione della possibilità tecnica di un loro utilizzo a fini di ripascimento o di recupero oppure del loro smaltimento alternativo.

La valutazione della qualità dei sedimenti e la conseguente classificazione è basata sulla integrazione dei risultati relativi alle caratteristiche fisiche, chimiche ed ecotossicologiche dei materiali. I riferimenti per tale classificazione sono costituiti dai livelli chimici di base (LCB) e dai livelli chimici limite (LCL) delle sostanze nei materiali e dai requisiti ecotossicologici degli stessi. Tali livelli di riferimento sono relativi all'ambito nazionale, sebbene sarebbe opportuno avere a disposizione valori locali, così come previsto nel medesimo manuale ICRAM-APAT.

Le attività di supporto al campionamento, quelle analitiche e di interpretazione dei risultati sono state condotte in collaborazione tra il personale del Dipartimento di Scienze della Vita e dell'Ambiente (Università Politecnica delle Marche, Ancona), e dell'Istituto Superiore per la Protezione e la Ricerca Ambientale (ISPRA) di Livorno.

## 1. ATTIVITA' DI CAMPIONAMENTO

In data 7-9 giugno 2011 sono stati campionati i sedimenti dall'area oggetto di indagine. Di seguito si riportano le sigle dei campioni, la lunghezza delle carote, il numero dei campioni da analizzare e le coordinate geografiche delle stazioni di campionamento (Tabella 1).

Tabella 1. Sigla dei campioni di sedimento prelevati nell'avamposto est, lunghezza carote, il numero dei campioni da analizzare e le coordinate geografiche delle stazioni di campionamento.

Area	Sigla	Lunghezza carota (m)	N. campioni da analizzare	COORDINATE GEOGRAFICHE (WGS 84)	
Avamposto est	P1 AV	0,30	1 (0-20)	39° 12' 12,07"N	9° 05' 28,96"E
	P2 AV	1,50	3 (0-50, 50-100, 100-150)	39° 12' 12,12"N	9° 05' 24,60"E
	P3 AV	1,15	2 (0-50, 50-100)	39° 12' 10,66"N	9° 05' 19,72"E
	P4 AV	1,20	2 (0-50, 50-100)	39° 12' 12,17"N	9° 05' 17,75"E
	P5 AV	1,10	2 (0-50, 50-100)	39° 12' 15,21"N	9° 05' 15,50"E
<b>TOTALE CAMPIONI</b>			<b>10</b>		

In accordo a quanto previsto per l'assistenza e la supervisione durante la fase di campionamento, immediatamente dopo il prelievo di ciascun campione, il sedimento è stato omogeneizzato sul campo e suddiviso in due aliquote principali, una delle quali utilizzata per la fase analitica e l'altra conservata a temperatura compresa tra -18 e -25 °C per eventuali verifiche.

Le modalità di trasporto e conservazione dei campioni sono indicate nella seguente Tabella 2.

Tabella 2. Contenitori utilizzati e temperature di trasporto e conservazione dei campioni di sedimento in funzione della tipologia di analisi.

PARAMETRO	CONTENITORE	TRASPORTO	CONSERVAZIONE
<b>Granulometria</b>	plastica	4/6 °C	4/6 °C
<b>Sostanza organica</b>	polietilene	4/6 °C	-18/-25 °C
<b>Chimica organica</b>	vetro	4/6 °C	-18/-25 °C
<b>Metalli e inorganici</b>	polietilene	4/6 °C	-18/-25 °C
<b>Microbiologia<sup>1</sup></b>	polietilene	4/6 °C	4/6 °C
<b>Ecotossicologia<sup>2</sup></b>	polietilene	4/6 °C	4/6 °C

<sup>1</sup> da eseguire sul campione fresco entro le 24 ore;

<sup>2</sup> da eseguire sul campione fresco entro 10 giorni (salvo diversa indicazione prevista dagli specifici protocolli)

## 2. MATERIALI E METODI DI ANALISI

### 2.1 Analisi fisico-chimiche

#### 2.1.1 Caratteristiche granulometriche

Per la determinazione delle caratteristiche granulometriche dei sedimenti marini si tratta ogni campione di sedimento (circa 70 g) con una soluzione di perossido di idrogeno ed acqua distillata (1:8) per 48 h a temperatura ambiente, per facilitare la separazione dei granuli.

In seguito, si separa il sedimento su maglia da 63  $\mu\text{m}$  in umido con acqua distillata; le due frazioni così ottenute vengono essiccate in stufa a 60 °C e successivamente pesate.

Si procede a vagliare la frazione > 63  $\mu\text{m}$  (sabbia e ghiaia) con pile di setacci da 2000, 1000, 500, 250, 125 e 63  $\mu\text{m}$  della serie ASTM; si pesa il sedimento corrispondente a ciascun intervallo e al termine delle operazioni si calcola in quale percentuale le varie frazioni sono presenti all'interno del campione.

#### 2.1.2 Azoto e fosforo totali

Le analisi condotte, il metodo utilizzato, l'unità di misura e il limite di quantificazione per la determinazione di azoto e fosforo sono riportati in Tabella 3.

Tabella 3. Metodiche analitiche, unità di misura e limite di quantificazione per azoto e fosforo totale nei campioni di sedimento.

	<b>Metodo</b>	<b>U.M.</b>	<b>LOQ</b>
<b>Azoto totale</b>	APAT IRSA-CNR 5030	mg/Kg t.q.	50
<b>Fosforo totale</b>	APAT IRSA-CNR 4110	mg/Kg t.q.	10

#### 2.1.3 Sostanza organica e metalli

Per la determinazione della sostanza organica si pesano circa 3 g di campione e si lasciano in muffola a 365° per 12 ore. Si effettuano 2 pesate, una prima dell'esposizione in muffola ed una subito dopo e si determina la sostanza organica per sottrazione.

Per l'analisi dei metalli, il campione (circa 0.3 g sostanza secca, s.s.) è stato mineralizzato in bombe di teflon, con l'impiego di un forno a microonde opportunamente programmato (Milestone 1200), mediante l'aggiunta di 3 ml di HNO<sub>3</sub> (65%) e di 1 ml di HCl (30%) ultrapuri. Alla soluzione ottenuta è stata aggiunta una quantità di acqua ultrapura tale da raggiungere il volume finale di 25 ml. La determinazione analitica è stata effettuata sia mediante l'impiego di Spettrofotometria ad Emissione Atomica (Varian Liberty AX Sequential ICP-AES) che mediante tecniche di Assorbimento Atomico con fiamma (Varian SpectrAA 220FS) o microforno di grafite ed effetto Zeeman (Varian SpectrAA 200Z, SpectrAA 240Z) secondo metodi precedentemente descritti (Fattorini et al., 2008). La determinazione del Hg è stata eseguita tramite Spettrofotometria ad assorbimento atomico con LECO AMA 254 Advanced Mercury Analyzer, senza alcun pretrattamento del campione o preconcentrazione, e confermata mediante produzione di vapori freddi con uno specifico analizzatore di mercurio (Agilent, Cetac Quick Trace Mercury Analyzer M6100). L'accuratezza delle metodiche è stata valutata analizzando soluzioni di bianco ed appositi standard certificati di riferimento (LGC 6137; SRM-NIST 2977; SRM-NIST 1944), i quali sono stati processati con le stesse modalità dei campioni. Vengono di seguito riportati i limiti di rilevabilità, di quantificazione e la percentuale di recupero del materiale certificato (Tabelle 4 e 5).

Tabella 4. Limiti di rilevabilità e di quantificazione dei metalli.

	Al	As	Cd	Cr	Cu	Fe	Hg	Ni	Pb	V	Zn
<b>Rilevabilità (mg/l)</b>	0.005	0.0005	0.00004	0.015	0.012	0.5	0.0002	0.008	0.0036	0.002	0.2
<b>Quantificazione (mg/kg)</b>	0.1	0.0441	0.0029	1.25	1.25	10	0.001	1.25	0.2998	0.01	5

Tabella 5. Accuratezza della analisi espressa come % del valore misurato rispetto a quello indicato per i materiali certificati (sedimento portuale).

Recupero %	Al	As	Cd	Cr	Cu	Fe	Hg	Ni	Pb	V	Zn
<b>LGC</b>	95	110	108	104	85	98	99	100	99	97	97

#### **2.1.4 Idrocarburi policiclici aromatici (IPA)**

La determinazione degli idrocarburi policiclici aromatici (PAHs) è stata effettuata secondo metodiche precedentemente descritte (Bocchetti et al., 2008), utilizzando un'aliquota decongelata, omogenea del campione, pari a 3 grammi. Al momento della preparazione i campioni sono stati addizionati con 5 ml di una soluzione di KOH 0.5 M in metanolo, per l'idrolisi dei lipidi e l'estrazione solido-liquido. I campioni sono stati agitati vigorosamente ed in seguito mantenuti in movimento per una notte intera a 4°C. Il completamento dell'idrolisi della componente lipidica e l'estrazione solido-liquido è stata eseguita mediante microonde a 200W e 55°C per 15 min (Microwave Digestion and Extraction System Mars-5, CEM). I campioni sono stati centrifugati a 1000×g per 5 min al fine di eliminare il residuo solido e i sovrantanti recuperati in nuovi tubi. Il volume dei campioni è stato ridotto a 0.5 ml mediante centrifuga evaporante (Speedvack, Juan), a 45°C per 60-120 min. Infine ai campioni è stato applicato un processo di purificazione e concentrazione attraverso una cromatografia a bassa pressione con resine SPE (estrazione in fase solida) del tipo Backerbond SPE C18 (500 mg, 6 mL) condizionate con 10 mL di fase mobile (tampone KHCO<sub>3</sub> 10 mM in H<sub>2</sub>O ultrapura e metanolo al 10%) e recuperati in fine con 1 ml di acetonitrile puro per HPLC.

Il sistema cromatografico utilizzato è costituito da una pompa HPLC per gradiente binario e un detector in fluorescenza (Perkin Elmer Serie 200). La separazione cromatografica è stata eseguita mediante equilibri di ripartizione utilizzando una colonna analitica Supelcosil LC-PAH (LC18 modificata e specifica per l'analisi di idrocarburi policiclici aromatici) da 10 cm di lunghezza, 4.6 mm di diametro interno e particelle da 3µm di diametro. L'analisi è stata condotta mediante gradiente dinamico utilizzando acqua ultrapura e acetonitrile come fasi mobili. Il gradiente utilizzato è il seguente: acqua 40% e acetonitrile 60% per 2 min; acetonitrile dal 60% al 100% con gradiente lineare per 10 min; acetonitrile 100% per 5 min; acetonitrile dal 100% al 60% con gradiente lineare per 2 min; acqua 40% e acetonitrile 60% per 6 min (ricondizionamento). La durata complessiva dell'analisi è di 25 minuti. La misurazione dei segnali è stata eseguita in fluorescenza modulando nel tempo le coppie di lunghezza d'onda applicate in eccitazione ed emissione secondo il seguente programma: 0 min, E<sub>c</sub>=280nm, E<sub>m</sub>=330nm; 6 min, E<sub>c</sub>=250nm, E<sub>m</sub>=370nm; 8 min, E<sub>c</sub>=280nm, E<sub>m</sub>=450nm; 9 min, E<sub>c</sub>=265nm, E<sub>m</sub>=380nm; 13 min, E<sub>c</sub>=290nm, E<sub>m</sub>=410nm; 25 min, E<sub>c</sub>=280nm, E<sub>m</sub>=330nm.

Il volume di campione iniettato è stato pari a 20 µL ed è garantito costante per tutte le analisi utilizzando un loop a volume noto, montato su una valvola di iniezione. La determinazione qualitativa e quantitativa degli analiti è stata eseguita attraverso il confronto dei cromatogrammi e dei segnali, con quelli ottenuti iniettando soluzioni standard a concentrazioni note e scalari,

preparate utilizzando una miscela di idrocarburi aromatici puri (EPA 610). L'accuratezza della procedura analitica e l'efficienza dell'estrazione e preparazione dei campioni è stata controllata attraverso la stima del recupero degli analiti ricercati in appropriate matrici certificate standard (SRM-NIST 2977; SRM-NIST 1944). Gli analiti determinati mediante il metodo appena descritto possono essere classificati in IPA a basso peso molecolare (naftalene, 1-metil naftalene, 2-metil naftalene, acenaftene, fluorene, fenantrene ed antracene) e IPA ad alto peso molecolare (fluorantrene, pirene, benzo[a]antracene, crisene, 7,12-dimetil benzo[a]antracene, benzo[b]fluorantrene, benzo[k]fluorantrene, benzo[a]pirene, dibenzo[a,h]antracene, benzo[g,h,i]perilene, indeno(1,2,3-cd)pirene). Le concentrazioni sono espresse in ng/g di campione (peso secco); il peso secco dei campioni è stato determinato essiccando delle aliquote degli stessi alla temperatura di circa 60°C per almeno 8 ore e determinando, per ciascun sedimento, il contenuto d'acqua associato.

### **2.1.5 Policlorobifenili (PCB) e pesticidi organoclorurati**

La determinazione di composti organici alogenati, tra cui policlorobifenili (PCBs), esaclorobenzene (HCB) e pesticidi organoclorurati inclusi nell'elenco EPA-8081 è stata condotta attraverso tecniche di gascromatografia con detector di massa (GC-MS). Aliquote scongelate ed omogenee pari a circa 3 g (peso umido) sono state addizionate con una soluzione di n-esano:acetone (2:1); in seguito ad una vigorosa agitazione, i campioni sono estratti utilizzando un sistema di estrazione controllata a microonde, alla temperatura di 110°C per 15 minuti alla potenza di 400 Watt (Microwave Digestion and Extraction System Mars-5, CEM) (Piva et al., 2011). In seguito le soluzioni di estrazione sono state recuperate in tubi di pyrex ed i campioni centrifugati blandamente (1000× g per 5 minuti) al fine di rimuovere residui solidi del campione. Le soluzioni sono state purificate con tecniche di estrazione in fase solida (SPE) utilizzando resine di estrazione del tipo Strata-X (Phenomenex, Strata-X 33u Polymeric Reversed Phase) da 500 mg e 6 mL, precedentemente condizionate mediante 15 mL di acetone e 15 mL di esano, oltre a resine del tipo Strata-FL (Phenomenex, FL-PR) da 1000 mg e 6 mL, precedentemente condizionate con 15 mL di esano. I campioni, opportunamente eluiti con l'ausilio di soluzioni di acetone ed esano, sono stati raccolti in appositi tubi in pyrex e quindi posizionati all'interno di un evaporatore centrifugo (SpeedVack Juan RC 1009), dove sono stati concentrati fino a secchezza, alla temperatura ambiente. In fine i campioni vengono solubilizzati in 0.5 mL di n-esano e posti all'interno di apposite vials in pyrex da 1.5 mL, provviste di chiusura superiore con membrana in silicone per foratura da siringhe analitiche per gascromatografia.

Le determinazioni analitiche sono state condotte mediante un gascromatografo Varian Chrompack CP-3800 (Varian Inc.), dotato di auto campionatore CP-8400 ed un detector costituito da uno spettrometro di massa Varian Saturn 2000 con trappola ionica. Le condizioni strumentali sono riassunte in seguito: il gas carrier è costituito da elio ultrapuro compresso di grado 5.6, erogato attraverso un sistema di filtri e trappole per ossigeno e umidità, con un flusso in colonna costante e pari a 1 ml/min; al momento dell'iniezione è previsto uno step di flusso pulsato alla pressione di 35 psi in testa alla colonna per 0.8 min. La temperatura dell'iniettore è mantenuta costante a 280°C; lo splittaggio prevede un rapporto pari a 1:25 per 5 min ed in seguito viene mantenuto costante a 1:10; questo viene interrotto per 0.8 min al momento dell'iniezione. Il volume di iniezione è pari a 1 µL attraverso micro-siringa da 10 µL, dosato attraverso auto campionatore tarato CP-8400. La colonna gas-cromatografica è del tipo Varian FactorFour (Varian Capillary Column, CP8944, VF-5 ms, 30 M × 0.25 mmID, DF=0.25) all'interno del forno GC impostato alla temperatura iniziale di 70°C, mantenuta per 1.5 min; in seguito è prevista una prima rampa di temperatura del forno GC di 10°C/min fino a 200°C, una seconda di 5°C/min fino a 270°C ed un'ultima di 10°C/min fino al raggiungimento di 300°C, temperatura mantenuta per 8.5 min. Al termine tutte le zone riscaldate vengono riportate ai valori iniziali e la durata delle separazioni cromatografiche è pari a circa 40 min.

Le specifiche del detector di massa sono le seguenti: la temperatura della linea di trasferimento allo spettrometro di massa (Transfer line) è di 180°C, quella della Manifold è pari a 50°C e quella della trappola ionica è di 150°C. Il vuoto all'interno della trappola ionica viene garantito da una pompa esterna del tipo Varian DS 102. La detezione del segnale mediante spettrometro di massa viene effettuata impostando i seguenti parametri strumentali: ritardo di accensione del filamento pari a 5 min; scansione degli ioni da 60 a 440 m/z fino a 40 min con modalità di ionizzazione automatica dei frammenti (0.76 secondi per scansione, corrente di emissione di 10 µA).

Al fine di garantire l'accuratezza e la precisione delle determinazioni, durante ogni sessione analitica sono state processate soluzioni di bianco, preparate con le stesse procedure descritte per i campioni, ma utilizzando solamente i solventi puri precedentemente indicati, oltre ad apposite soluzioni (minimo 10) a diverse concentrazioni di standard analitici puri (Supelco Pesticide EPA8081 Standard Mix; Supelco Aroclor 1221, 1242, 1254 Standard Mix; Supelco Hexachlorobenzene standard; Polychlorinated Biphenyl Congeners NIST SRM1493) e le determinazioni corrette mediante l'utilizzo di uno standard interno (tetra cloro m-xylene TCMX).

La stima del recupero degli analiti ricercati è stata effettuata analizzando appropriate matrici certificate di riferimento (SRM-NIST 2977; SRM-NIST 1944). Gli analiti presenti nei campioni vengono determinati confrontando il tempo di ritenzione e gli spettri caratteristici con quelli precedentemente ottenuti per le soluzioni standard. Inoltre, gli spettri di massa caratteristici vengono confrontati con quelli di un database certificato di riferimento (NIST/EPA/NIH Mass

Spectra Search Program Version 2.0f). Le concentrazioni sono espresse in ng/g di campione (peso secco); il peso secco dei campioni è stato determinato essiccando delle aliquote degli stessi alla temperatura di circa 60°C per almeno 8 ore e determinando, per ciascun sedimento, il contenuto d'acqua associato.

### **2.1.6 Idrocarburi alifatici**

La determinazione degli idrocarburi alifatici semi-volatili o non volatili (>C10-C40) avviene mediante tecniche gas-cromatografiche, conformi a metodi descritti in letteratura (Piva et al., 2011). I campioni sono stati decongelati ed aliquote pari a circa 3 g (peso umido) sono state addizionate con una soluzione di n-esano:acetone (2:1) in un rapporto di 1:3, peso campione / volume di solvente (m/v). Dopo una vigorosa agitazione, i campioni stati sono estratti utilizzando un sistema di estrazione controllata a microonde, alla temperatura di 110°C per 15 minuti alla potenza di 400 Watt (Microwave Digestion and Extraction System Mars-5, CEM).

In seguito le soluzioni di estrazione sono state recuperate in tubi di pyrex ed i campioni centrifugati blandamente (1000× g per 5 minuti) al fine di rimuovere residui solidi del campione. Le soluzioni sono state purificate con tecniche di estrazione in fase solida (SPE) utilizzando resine di estrazione del tipo Strata-X (Phenomenex, Strata-X 33u Polymeric Reversed Phase) da 500 mg e 6 mL, precedentemente condizionate mediante 15 mL di acetone e 15 mL di esano, oltre a resine del tipo Strata-FL (Phenomenex, FL-PR) da 1000 mg e 6 mL, precedentemente condizionate con 15 mL di esano. I campioni eluiti con l'ausilio di soluzioni di acetone ed esano, sono stati raccolti in appositi tubi in pyrex e quindi posizionati all'interno di un evaporatore centrifugo (SpeedVack Juan RC 1009), dove sono stati concentrati fino a secchezza, alla temperatura ambiente. Infine i campioni sono stati solubilizzati in 0.5 mL di n-pentano e posti all'interno di apposite vials in pyrex da 1.5 mL, provviste di chiusura superiore con membrana in silicone per foratura da siringhe analitiche per gascromatografia. L'analisi è stata condotta in gascromatografia con detector FID (Perkin Elmer Clarus 500). La colonna cromatografica utilizzata è del tipo Elite-5 (Perkin Elmer). Il metodo analitico prevede le seguenti specifiche: rampa di temperatura del forno da 40°C a 320°C, flusso di carrier (idrogeno) pari a 1 ml/min, con rapporto di splittaggio iniziale pari a 1:20; temperatura dell'iniettore variabile da 40°C a 280°C; temperatura del detector FID pari a 320°C costante, rapporto di fiamma pari a 10:1, aria:idrogeno. Al termine delle curve di riscaldamento di iniettore e forno, le temperature vengono riportate ai valori iniziali; la durata complessiva della separazione gas-cromatografica è di circa 25 min. La determinazione quantitativa degli idrocarburi totali è stata effettuata calibrando il sistema mediante uno standard puro costituito da un mix di specie chimiche di idrocarburi con pari numero di carbonio da C10 a C40, lineari ed insaturi, conforme alle specifiche EN ISO 9377-3.

Per la determinazione degli idrocarburi volatili (C5-C10) aliquote omogenee di campione pari a circa 5 grammi sono state congelate a temperatura ambiente e rapidamente introdotte all'interno di apposite vials per campionamento di spazio di testa e chiuse ermeticamente per impedire la fuoriuscita dei composti volatili; i campioni così preparati sono stati riscaldati alla temperatura di 70°C in apposito bagno termostato per almeno 20 minuti, quindi un volume pari a 100 µL è stata campionata mediante apposita siringa per iniezione di gas ed immediatamente trasferita al sistema cromatografico descritto in precedenza, con il seguente metodo analitico: rampa di temperatura del forno da 40°C a 260°C, flusso di carrier (idrogeno) pari a 1 ml/min (splitless); temperatura dell'iniettore pari 160°C costante; temperatura del detector FID pari a 280°C costante, rapporto di fiamma pari a 10:1, aria:idrogeno. La durata complessiva dell'analisi è di circa 10 minuti.

Le concentrazioni degli idrocarburi volatili ed alifatici sono espresse in µg/g di campione (peso secco); il peso secco dei campioni è stato determinato essiccando delle aliquote degli stessi alla temperatura di circa 60°C per almeno 8 ore e determinando, per ciascun sedimento, il contenuto d'acqua associato.

### **2.1.7 Composti organostannici**

I composti organo-stannici, specificatamente tributil-stagno (TBT) e trifenil-stagno (TPhT) sono stati determinati mediante tecniche di cromatografia liquida ad elevate prestazioni (HPLC). I sedimenti sono stati congelati a temperatura ambiente e quindi vigorosamente mescolati al fine di ottenere aliquote omogenee e rappresentative del campione; a questo punto, aliquote di circa 3 g (peso umido) sono state addizionate con una soluzione di n-esano:acetone (2:1) in un rapporto di 1:3, peso campione / volume di solvente (m/v). Dopo una vigorosa agitazione, i campioni sono stati estratti utilizzando un sistema di estrazione controllata a microonde, alla temperatura di 110°C per 15 minuti alla potenza di 400 Watt (Microwave Digestion and Extraction System Mars-5, CEM). In seguito i campioni sono stati raffreddati a temperatura ambiente e la fase polare recuperata separandola dalla fase acquosa e dal residuo solido del campione stesso. Le soluzioni di estrazione sono state addizionate di soda concentrata (NaOH 10 M) in rapporto 1:1 (v/v) ed i campioni sono stati così mantenuti in agitazione per 10 minuti al fine di rimuovere ogni forma organica interferente dello stagno eventualmente presente, oltre ai composti tri-sostituiti (TBT e TPhT) di interesse analitico. Al termine, i campioni sono centrifugati a 500x g per alcuni minuti in modo da separare efficacemente la fase polare da quella acquosa. La fase polare, è stata portata a secchezza mediante un evaporatore rotante (Speedvack, Juan) ed i campioni mantenuti in tal modo a +4°C fino al momento delle analisi; prima di queste, i campioni sono disciolti in metanolo (0.5 mL) e centrifugati a 5000x g per 5 minuti al fine di rimuovere eventuali residui insolubili.

Il sistema cromatografico utilizzato per la determinazione di TBT e TPhT, consiste di un HPLC con pompa binaria e detector in fluorescenza (Perkin Elmer Serie 200), con una colonna in fase inversa del tipo Supelcosil LC18 Ascentis (15cm x 4.6mmID x 5µm); la fase mobile è costituita da metanolo:acqua:acido acetico (70:25:5), 0.05% Trietilammina e 0.0015% Morin idrato (pH compreso tra 3.5 e 4.0), al flusso di 1mL/min. Il Morin idrato era stato precedentemente preparato alla concentrazione di 7.5 g/L in etanolo puro per HPLC e mantenuto alla temperatura di +4°C. Il Morin, aggiunto alla fase mobile analitica, ha il compito di legare i composti organo-stannici formando dei complessi fluorescenti; gli analiti vengono identificati alle lunghezze d'onda di 424 nm in eccitazione e 505 nm in emissione. La determinazione quantitativa è stata effettuata confrontando i segnali ottenuti con quelli di soluzioni di standard puri di TBT e TPhT precedentemente preparati in metanolo puro per HPLC, mentre l'accuratezza, la precisione delle determinazioni e la resa analitica è stata valutata analizzando appositi standard certificati di riferimento (SRM IRMM ERM-CE477) precedentemente preparati con le medesime modalità descritte per i campioni. Le concentrazioni sono espresse in parti per miliardo (ppb) di stagno, equivalenti a ng (Sn)/g di campione (peso secco); il peso secco dei campioni è stato determinato essiccando delle aliquote degli stessi alla temperatura di circa 60°C per almeno 8 ore e determinando, per ciascun sedimento, il contenuto d'acqua associato.

## **2.2 Analisi ecotossicologiche**

### **2.2.1 Saggio biologico con *Vibrio fischeri***

*Vibrio fischeri* è un batterio marino Gram - negativo ed eterotrofo, appartenente alla famiglia delle *Vibrionaceae*. E' cosmopolita, ma con maggior diffusione nelle fasce temperate e subtropicali. Il sistema Microtox® è un test biologico di tossicità acuta basato sull'utilizzo della bioluminescenza naturale di questa specie. Poiché in presenza di contaminanti l'emissione di luce da parte di *V. fischeri* diminuisce, la misura dell'eventuale inibizione della bioluminescenza a seguito dell'esposizione del batterio ad una sostanza nota o ad un campione naturale di acqua o sedimento, consente di valutare il grado di tossicità della sostanza o della matrice saggiata. Il sistema di misura risulta piuttosto versatile in quanto è applicabile a matrici naturali, sia continentali che marine, acquose (acqua potabile, acqua interstiziale, elutriato, ecc.) e solide (fanghi, suoli, sedimenti), nonché a soluzioni acquose di sostanze tossiche pure sia organiche sia inorganiche.

### *Preparazione e conservazione dei campioni*

Per ogni campione di sedimento è stata analizzata la matrice elutriato, la quale fornisce indicazioni sulla frazione idrosolubile dei contaminanti, che per agitazione meccanica viene estratta in acqua, e rappresenta la matrice più indicativa in caso di movimentazione dei fondali marini (USACE, 1991; Onorati & Volpi Ghirardini, 2001).

### *Procedura adottata*

L'emissione della bioluminescenza è stata misurata all'interno del luminometro termostato M500, dotato di pozzetti termostati a 15°C per i controlli e i campioni, e a 4°C per il reagente.

Per i campioni di elutriato è stato applicato il test per l'individuazione di una curva dose-effetto (Azur Environmental, 1995a,b) organizzato con 3 repliche del controllo e 7 diluizioni del campione a partire dal 90%, effettuando le letture dopo esposizione di 5, 15 e 30 minuti. Tale procedura è riconducibile al protocollo ISO (2006), specifico per batteri liofilizzati.

Inoltre il diluente standard (soluzione di NaCl al 3,5%) è stato sostituito con acqua di mare sintetica a 35 PSU, in quanto essa fornisce un ambiente osmotico e fisiologico più idoneo all'attività metabolica dei batteri e consente di ottenere pertanto risultati più verosimili nello studio di ambienti marino-salmastri (Onorati & Mecozzi, 2004).

La relazione dose - risposta, ovvero concentrazione del campione-inibizione della bioluminescenza, è stata elaborata mediante un software dedicato (Microtox Omni™ v. 1.16), che consente di individuare l'EC<sub>50</sub> (o qualunque altra EC), ossia la concentrazione del campione cui corrisponde una riduzione della bioluminescenza pari al 50% o, in alternativa, la semplice variazione percentuale di emissione di luce rispetto al controllo.

Il campione è stato giudicato tossico quando la curva dose-risposta consente di individuare una EC<sub>20</sub> < 90%, secondo la Tabella 6, adottata anche nel DM/56 per la classificazione dei corpi idrici.

Tabella 6. Scale di tossicità acuta utilizzate nel saggio biologico mediante *Vibrio fischeri*.

<b><i>Vibrio fischeri</i> fase solida</b>	<b><i>Vibrio fischeri</i> elutriato</b>	<b>Tossicità</b>
<b>S.T.I. ≤ 3</b>	EC <sub>20</sub> ≥ 90%	<b>ASSENTE/TRASCURABILE</b>
<b>3 &lt; S.T.I. ≤ 6</b>	EC <sub>20</sub> < 90% e EC <sub>50</sub> ≥ 90%	<b>MEDIA</b>
<b>6 &lt; S.T.I. ≤ 12</b>	20% ≤ EC <sub>50</sub> < 90%	<b>ELEVATA</b>
<b>S.T.I. &gt; 12</b>	EC <sub>50</sub> < 20%	<b>MOLTO ELEVATA</b>

### 2.2.2 Saggio biologico con *Paracentrotus lividus*

L'affidabilità del riccio di mare come bioindicatore è riconosciuta a livello mondiale e già negli anni '80 i test di fecondazione e di sviluppo embrionale sono stati inclusi nella lista ICES dei test biologici più attendibili per il monitoraggio dell'inquinamento marino. Procedure standard per i test di fecondazione e di sviluppo embrionale sono state messe a punto per le specie della costa orientale (*Arbacia punctulata*, *Strongylocentrotus droebachiensis*) e per quelle della costa occidentale (*Strongylocentrotus purpuratus*, *Strongylocentrotus droebachiensis*, *Dendraster excentricus*) degli Stati Uniti (USEPA, 1994, 1995; ASTM, 1995, 2004) e per il Canada (Environment Canada, 1992). In Italia, la specie autoctona *Paracentrotus lividus*, ha trovato applicazione in campo ecotossicologico in particolare per quanto riguarda lo studio degli effetti sulla fecondazione e sullo sviluppo embrionale (difetti nello sviluppo e aberrazioni mitotiche) di sostanze pure e di effluenti. In effetti, il saggio biologico con *P. lividus* può essere impiegato sia nella valutazione della qualità di matrici ambientali (acque e sedimenti marini) sia nella stima della tossicità di sostanze o preparati solubili in acqua di mare. In particolare, per quanto riguarda i sedimenti marini esso è compatibile con l'acqua interstiziale e l'elutriato.

#### *Matrici acquose testate*

La matrice ambientale soggetta alla valutazione ecotossicologica in questo saggio biologico è l'elutriato. L'elutriato fornisce informazioni su tutte quelle componenti estraibili in acqua. Quest'ultima rappresenta una delle matrici più indicative nello studio degli effetti della movimentazione dei fondali (USACE, 1991; ASTM, 1995) come nei dragaggi portuali, nei siti di discarica, ecc.

#### *Preparazione dell'elutriato*

L'elutriato è stato preparato in accordo con il protocollo standard US EPA (1991) combinando in peso quattro parti di acqua filtrata prelevata da una zona non contaminata con una parte di sedimento. Il tutto è stato messo ad agitare per 1 h a 400 giri/min. La fase liquida è stata quindi raccolta e centrifugata per 20 min a 3500 giri/min. Subcampioni di surnatante sono stati congelati e utilizzati nei vari test, in modo da impiegare sempre lo stesso campione nel corso dei vari esperimenti. Il congelamento infatti non sembra alterare in modo significativo le caratteristiche dei nutrienti (NO<sub>3</sub> e PO<sub>4</sub>) della fase liquida (Clementson & Wayte, 1992) e uno studio condotto da Pastorok et al. (1995) ha permesso di verificare l'assenza di differenze significative tra la tossicità di campioni di matrici acquose appena estratte o congelate. Il congelamento è pertanto un passaggio indispensabile per garantire la confrontabilità fra i dati sperimentali, in quanto permette

di stoccare adeguatamente i subcampioni rendendoli disponibili per la ripetizione del saggio in periodi diversi.

L'elutriato viene testato sia non diluito (100%) che diluito ai valori di 25%, 50% e 75% con acqua di mare filtrata e con acqua ricostituita.

### *Raccolta degli organismi*

Per assicurare la maturità sessuale, i ricci di mare adulti vengono raccolti tra Settembre e Maggio. Esemplari adulti sono stati prelevati da fondali rocciosi del litorale di Livorno in una zona distante da fonti di inquinamento antropico (scarichi urbani e industriali).

Tutti i ricci (40-50) vengono raccolti ad una profondità tra 1 e 3 m. Gli animali raccolti sono stati posti in un contenitore di plastica e ricoperti con abbondante carta bibula umida per minimizzare lo stress da trasporto ed evitare così possibili emissioni di gameti. In laboratorio gli esemplari vengono posti in una camera termostata, in acquari di vetro contenenti acqua di mare raccolta nello stesso sito di campionamento e dotati di un sistema di areazione e di filtraggio (20-30 individui per 100 l di acqua). Periodicamente vengono controllati temperatura ( $16\pm 1^\circ\text{C}$ ), salinità (34‰ - 38‰), pH (7,8-8,2), ammoniaca e nitrati.

In questo modo i ricci sono mantenuti in condizioni stabili, almeno per una settimana.

### *Modalità di esecuzione del test di embriotossicità*

La fase vera e propria del test consiste nell'ottenere gli zigoti attraverso l'unione della sospensione spermatica (concentrazione desiderata) con la sospensione di uova in un rapporto spermatozoi:uova di 10:1. Lasciare il beaker a  $18\pm 1^\circ\text{C}$  e aspettare almeno 20 min affinché possa avvenire la fecondazione delle uova.

Il saggio di embriotossicità viene eseguito esponendo 1 mL di soluzione di uova fecondate a 10 mL della soluzione test in cella termostatica al buio a  $18^\circ\text{C}\pm 1$  per 72h.

Normalmente gli zigoti si sviluppano e raggiungono lo stadio larvale in 48h, ma il tempo di esposizione scelto per il test, garantisce che tutti gli zigoti raggiungano lo stadio di larva (pluteo) nel controllo negativo. Il test viene stoppato con l'aggiunta di 1 ml di formalina concentrata tamponata.

La stima della percentuale di plutei normali avviene contando 100 larve. Per ottenere una stima più accurata degli effetti embriotossici, si distinguono le anomalie dello sviluppo distinguendo tra plutei malformati, cioè larve sviluppate ma che presentano malformazioni scheletriche e/o all'apparato digerente, e fasi pre-larvali di blastula, gastrula, prisma e pluteo precoce, che si sono bloccate prima del raggiungimento del completo sviluppo.

### Elaborazione dei dati

L'effetto della sostanza testata, di cui si vuole valutare la tossicità, viene rilevato dalla percentuale di uova non fecondate rispetto a un controllo di acqua di mare. Come abbiamo detto in precedenza, il test viene considerato accettabile se il tasso di fecondazione del controllo oscilla tra il 70%-90%. Applicando la formula di Abbott (Finney, 1971), la percentuale di uova non fecondate in ogni camera test viene confrontata e normalizzata rispetto al controllo.

$$\text{Abbott} = (X-Y)/(100-Y) \cdot 100$$

X=% di uova non fecondate nel campione da testare    Y=% di uova non fecondate nel controllo

I valori così ottenuti vengono impiegati in due elaborazioni differenti: per quanto riguarda i campioni, la loro eventuale tossicità viene valutata mediante il calcolo dell' EC20 e dell' EC50 ottenuti con lo specifico programma Tox Calc 5.0 mediante il metodo della Probit Analysis. I valori ottenuti vengono confrontati con la scala di tossicità riportata in Tabella 7 ed il campione può essere valutato contaminato o non contaminato.

Tabella 7. Scala di tossicità utilizzate nel saggio con *Paracentrotus lividus*.

EC20/EC50	Tossicità
EC20 ≥ 90%	ASSENTE/TRASCURABILE
EC20 < 90% e EC50 > 100%	MEDIA
40% ≤ EC50 ≤ 100%	ALTA
EC50 < 40%	MOLTO ALTA

Per il rame, utilizzato come tossico di riferimento, i valori di EC50 vengono ottenuti utilizzando due metodi statistici differenti: il Trimmed Spearman-Kärber (Hamilton et al.,1978) e la Probit Analysis (Finney, 1971). Il valore dell'EC50 indica la concentrazione della sostanza di prova (Cu(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> x 3H<sub>2</sub>O (1000 mg/l)) che causa una riduzione della fecondazione del 50% rispetto a un controllo negativo.

### 2.2.3 Saggio biologico con *Acartia tonsa*

#### Caratteristiche generali

Il saggio è stato eseguito seguendo la metodologia riportata in Gorbi *et al.* 2006, Savorelli *et al.* 2006. Come "materiale biologico" di partenza per la realizzazione di saggi tossicologici acuti e cronici si utilizza lo stadio uovo di *Acartia tonsa* (Copepoda, Calanoida), un crostaceo planctonico le cui dimensioni variano da 0.9 a 1.2 mm, caratterizzato da un evidente dimorfismo sessuale e da un

ciclo vitale complesso con 13 fasi morfologicamente differenti (uovo, 6 fasi naupliari, 5 fasi copepodite, adulto). Gli endpoint utilizzati sono la schiusa delle uova e la vitalità naupliare.

### *Metodologia di esecuzione*

Il saggio viene effettuato utilizzando uova di *A. tonsa* deposte, nell'arco delle 15-16 h circa precedenti l'inizio della prova, da adulti mantenuti in allevamento in condizioni definite (Gorbi *et al.* 2006, Savorelli *et al.* 2006). I campioni da testare sono costituiti da elutriato ed il test prevede per ogni campione l'utilizzo di una piastra contenente 24 pozzetti. Ai fini del saggio ne vengono utilizzati 18 in ognuno dei quali vengono aggiunti 2.5 ml di elutriato e un uovo. A 24 h e 48 h si verificano la schiusa delle uova e la vitalità naupliare mediante stereomicroscopio. Per ogni campione sono state effettuate tre repliche e parallelamente ai test sono stati allestiti controlli negativi con acqua di mare sintetica al 30‰ di salinità.

## **2.3 Analisi microbiologiche**

In Tabella 8 sono riportate le tipologie di analisi microbiologiche condotte, il metodo utilizzato e l'unità di misura.

Tabella 8. Schema riassuntivo delle analisi microbiologiche.

	<b>Metodo</b>	<b>U.M.</b>
<b>Coliformi fecali (<i>Escherichia coli</i>)</b>	APAT IRSA-CNR 7030	MPN/g t.q.
<b>Enterococchi fecali</b>	APAT IRSA-CNR 7040	MPN/g t.q.
<b>Salmonella spp</b>	APAT IRSA-CNR 7080	in 50g t.q.
<b>Spore di clostridi solfito riduttori</b>	APAT IRSA-CNR 7060 ICRAM 2001	UFC/g t.q.
<b>Stafilococchi</b>	Rapporti ISTISAN07/5	UFC/g t.q.

### 3. RISULTATI

#### 3.1 Analisi fisico-chimiche

##### 3.1.1 Caratteristiche granulometriche

Nella Tabella 9 viene riportata una sinetesi dei risultati delle analisi granulometriche dei sedimenti campionati. Le schede granulometriche relative alle stazioni di campionamento sono riportate in Appendice 1 – Schede granulometriche.

Tabella 9. Granulometria dei sedimenti campionati.

<b>Campione</b>	<b>Ghiaia (%)</b>	<b>Sabbia (%)</b>	<b>Pelite (%)</b>
<b>P1 AV 0-20</b>	13.72	62.82	23.46
<b>P2 AV 0-50</b>	78.20	19.90	1.90
<b>P2 AV 50-100</b>	66.53	30.20	3.27
<b>P2 AV 100-150</b>	64.58	30.33	5.09
<b>P3 AV 0-50</b>	13.98	58.31	27.70
<b>P3 AV 50-100</b>	12.93	63.06	24.01
<b>P4 AV 0-50</b>	9.18	69.23	21.59
<b>P4 AV 50-100</b>	23.28	65.38	11.34
<b>P5 AV 0-50</b>	4.98	33.33	61.68
<b>P5 AV 50-100</b>	1.61	10.89	87.50

In tutti i campioni analizzati la distribuzione delle diverse frazioni granulometriche risulta essere piuttosto omogenea lungo il profilo della stesse. Nella carota P1 AV, nella P3 AV e nella P4 AV la composizione prevalente è quella sabbiosa, nella carota P5 AV prevale la pelite, mentre in P2 AV la frazione preponderante è rappresentata dalla ghiaia.

### 3.1.2 Descrizione macroscopica dei sedimenti

Nella Tabella 10 è riportata la descrizione macroscopica dei sedimenti effettuata in campo al momento della preparazione delle aliquote di campione.

Tabella 10. Caratteristiche macroscopiche salienti dei sedimenti campionati.

Campione	Tipologia di sedimento	Colore	Odore	Grado di idratazione	Residui
<b>P1 AV 0-20</b>	Sabbia/limo	Grigio scuro	Forte odore organico	Alto	Residui vegetali
<b>P2 AV 0-50</b>	Ghiaia mista a sabbia	Grigio scuro	Forte odore organico	Alto	Detrito conchigliare
<b>P2 AV 50-100</b>	Ghiaia fine	Grigio scuro	Forte odore di idrocarburi	Alto	Detrito conchigliare
<b>P2 AV 100-150</b>	Ghiaia fine	Grigio scuro	Forte odore di idrocarburi	Alto	Detrito conchigliare
<b>P3 AV 0-50</b>	Ghiaia fine	Grigio scuro	Forte odore di idrocarburi	Alto	Detrito conchigliare
<b>P3 AV 50-100</b>	Ghiaia fine	Grigio scuro	Forte odore di idrocarburi	Alto	Detrito conchigliare
<b>P4 AV 0-50</b>	Sabbia fine	Grigio scuro	No	Buono	Detrito conchigliare
<b>P4 AV 50-100</b>	Sabbia fine	Grigio scuro	No	Buono	Residui vegetali
<b>P5 AV 0-50</b>	Sabbia fine/limo	Grigio scuro	No	Buono	Detrito conchigliare nei primi 20 cm
<b>P5 AV 50-100</b>	Sabbia fine/limo	Grigio scuro	No	Buono	No

### 3.1.3 Azoto e fosforo totali

Nella Tabella 11 sono riportati i risultati dell'analisi di azoto e fosforo totali nei sedimenti prelevati nell'area d'indagine.

Tabella 11. Risultati delle analisi di azoto e fosforo nei sedimenti (mg/Kg t.q.).

Campione	Azoto	Fosforo
<b>P1 AV 0-20</b>	417	150
<b>P2 AV 0-50</b>	<50	141
<b>P2 AV 50-100</b>	557	152
<b>P2 AV 100-150</b>	622	119
<b>P3 AV 0-50</b>	433	209
<b>P3 AV 50-100</b>	569	367
<b>P4 AV 0-50</b>	261	283
<b>P4 AV 50-100</b>	1365	272
<b>P5 AV 0-50</b>	339	210
<b>P5 AV 50-100</b>	1237	206

I valori di azoto risultano variabili nelle varie stazioni, ma senza un trend preciso in funzione dell'area o della profondità, e comunque con livelli paragonabili a quelli rilevati in altre aree

costiere. I valori di fosforo sono più costanti tra i vari campioni, ed anch'essi nel normale range di variabilità per questo parametro.

### 3.1.4 Sostanza organica e metalli

Nella Tabella 12 sono riportati i risultati delle analisi della sostanza organica e dei metalli nei sedimenti prelevati nell'area d'indagine.

Tabella 12. Risultati delle analisi di sostanza organica (S.O.%) e dei metalli (mg/kg s.s.) nei sedimenti analizzati.

		P01 AV (000-020)	P02 AV (000-050)	P02 AV (050-100)	P02 AV (100-150)	P03 AV (000-050)	P03 AV (050-100)	P04 AV (000-050)	P04 AV (050-100)	P05 AV (000-050)	P05 AV (050-100)	LCB (pelite < 10%)	LCB (pelite > 10%)	LCL
S.O.%	%	1.34	0.71	1.29	1.27	2.42	2.54	1.5	0.8	6.37	10.05	-	-	-
Al	µg/g	1813	1438	6217	1113	4788	3521	2338	1975	2200	2288	-	-	-
As	µg/g	14.94	14.53	7.75	9.49	9.54	25.13	15.05	10.79	32.29	48.33	17	25	32
Cd	µg/g	0.049	< 0.01	0.076	0.101	0.075	0.113	0.103	0.037	0.163	0.2	0.20	0.35	0.80
Cr	µg/g	57.08	25.34	21.23	35.93	38.86	49.37	31.85	34.93	83.43	67.03	50	100	360
Cu	µg/g	6.32	1.35	3.74	4.13	9.21	10.6	7.72	4.21	14.39	16.5	15	40	52
Fe	µg/g	11349	3757	4557.3	5550.9	15851	18658	15844	7873.9	25814	30677	-	-	-
Hg	µg/g	0.016	0.037	0.104	0.099	0.205	0.051	0.034	0.074	0.158	0.093	0.20	0.40	0.80
Ni	µg/g	7.39	< 1.25	2.39	3.77	8.38	10.59	9.91	3.37	12.34	13.52	40	70	75
Pb	µg/g	25.03	4.46	5.31	12.74	23.64	22.69	8.02	15.59	33.53	40.56	25	40	70
V	µg/g	19.9	9.7	10.8	12.0	28.0	37.2	31.8	20.5	28.5	29.7	-	-	-
Zn	µg/g	56.9	17.3	26.1	32.5	66.8	90.1	63.7	35.6	127.0	139.9	50	100	170

La concentrazione di tutti i metalli risulta generalmente inferiore al valore dell'LCB riportato nel "Manuale per la movimentazione dei sedimenti marini" (ICRAM-APAT, 2007) in tutti i campioni analizzati, rispetto al contenuto di pelite presente. Fanno eccezione le concentrazioni di As nel campione P03 AV 50-100 (confrontabile a LCB) ed in entrambi i livelli della carota P5 AV con valori superiori a LCB o LCL; in questa carota (P5 AV 0-50 e 50-100) anche le concentrazioni di zinco risultano superiori a LCB.

### 3.1.5 Idrocarburi policiclici aromatici (IPA)

Nella Tabella 13 sono riportati i risultati delle analisi degli IPA determinati nei sedimenti prelevati nelle stazioni di campionamento.

Tabella 13. Risultati delle analisi degli IPA (ng/g s.s.) nei sedimenti campionati.

		P01 AV (000-020)	P02 AV (000-050)	P02 AV (050-100)	P02 AV (100-150)	P03 AV (000-050)	P03 AV (050-100)	P04 AV (000-050)	P04 AV (050-100)	P05 AV (000-050)	P05 AV (050-100)	LCB	LCL
Naftalene*	ng/g	55.52	48.09	27.18	42.07	83.99	36.17	78.36	36.00	62.48	52.77	35	391
1-Metil naftalene	ng/g	5.06	4.32	2.28	3.55	9.26	3.15	7.82	3.37	6.30	6.00		
2-Metil naftalene	ng/g	9.58	8.00	4.24	6.66	16.03	6.08	14.73	6.30	12.04	10.50		
Acenaftene	ng/g	0.108	< 0.02	< 0.02	0.041	0.194	0.055	0.218	0.150	0.191	0.174		
Fluorene	ng/g	13.89	15.39	5.62	8.23	14.79	7.71	24.84	5.17	13.22	8.14	21	144
Fenantrene	ng/g	5.69	9.05	5.45	3.75	13.63	3.74	12.51	4.36	8.06	8.66	87	544
Antracene**	ng/g	1.553	0.970	0.471	0.593	1.162	0.572	2.148	0.566	1.624	0.863	47	245
Fluorantene*	ng/g	0.797	0.468	0.615	0.120	1.171	0.170	0.455	0.301	1.638	1.164	113	1494
Pirene	ng/g	16.07	9.74	7.48	6.60	7.07	3.96	22.01	6.22	17.16	5.22	153	1398
Benzo(a)antracene	ng/g	0.024	0.730	0.702	0.238	0.028	0.259	0.398	0.071	0.126	0.015	75	693
Crisene	ng/g	0.404	< 0.01	< 0.01	< 0.01	0.261	< 0.01	0.202	0.226	0.667	0.063	108	846
7,12-Dimetil benzo(a)antracene	ng/g	0.027	0.036	0.014	< 0.01	0.186	0.018	0.229	0.245	0.100	0.036		
Benzo(b)fluorantene**	ng/g	0.381	0.824	0.821	< 0.01	0.099	0.054	0.149	0.030	0.380	0.014		
Benzo(k)fluorantene**	ng/g	0.199	0.049	0.067	0.029	0.039	0.029	0.015	0.024	0.232	0.046		
Benzo(a)pirene**	ng/g	0.215	0.059	< 0.01	0.043	0.057	0.056	0.019	0.046	0.346	0.062	80	763
Dibenzo(a,h)antracene	ng/g	0.028	1.057	0.034	< 0.01	0.022	0.052	0.044	< 0.01	0.029	0.044		
Benzo(g,h,i)perilene**	ng/g	0.012	0.052	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01	0.317	< 0.01		
Indeno(1,2,3-cd)pirene**	ng/g	1.40	0.68	0.10	0.17	< 0.01	0.28	1.57	0.59	0.85	0.84		
Σ IPA BPM	ng/g	76.76	73.50	38.72	54.68	113.76	48.26	118.09	46.25	85.57	70.61		
Σ IPA APM	ng/g	19.53	13.66	9.82	7.20	8.74	4.86	24.86	7.50	21.75	7.47		
Σ IPA metilati	ng/g	14.67	12.36	6.53	10.21	25.48	9.25	22.77	9.92	18.44	16.54		
Σ IPA tot**	ng/g	110.96	99.52	55.08	72.09	147.98	62.37	165.72	63.67	125.75	94.61	900	4000

\* Sostanze prioritarie secondo la Direttiva 2008/105/CE del Parlamento Europeo e del Consiglio

\*\* Sostanze pericolose prioritarie secondo la Direttiva 2008/105/CE del Parlamento Europeo e del Consiglio

Le concentrazioni degli IPA risultano generalmente inferiori al valore dell'LCB riportato nel "Manuale per la movimentazione dei sedimenti marini" (ICRAM-APAT, 2007) in tutti i campioni, con l'unica eccezione del naftalene che evidenzia valori di poco superiori a LCB.

### 3.1.6 Policlorobifenili (PCB) e pesticidi organoclorurati

Nelle Tabella 14 sono riportati i risultati delle analisi dei PCB determinati nei sedimenti delle varie stazioni di campionamento, mentre in Tabella 15 sono riportati quelli relativi ai pesticidi organoclorurati.

Tabella 14. Risultati dei PCB (ng/g s.s.) nei sedimenti campionati.

PCB	P1 AV 0-20	P2 AV 0-50	P2 AV 50-100	P2 AV 100-150	P3 AV 0-50	P3 AV 50-100	P4 AV 0-50	P4 AV 50-100	P5 AV 0-50	P5 AV 50-100
PCB8	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5
PCB18	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5
PCB28	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5
PCB44	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5
PCB52	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5
PCB66	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5
PCB77	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5
PCB101	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5
PCB105	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5
PCB118	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5
PCB126	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5
PCB128	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5
PCB138	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5
PCB153	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5
PCB170	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5
PCB180	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5
PCB187	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5
PCB195	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5
PCB206	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5
PCB209 (DCBP)	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5
Σ-PCBs	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5

Tabella 15. Risultati dei pesticidi organoclorurati (ng/g s.s.) nei sedimenti campionati.

Pesticidi organoclorurati	P1 AV 0-20	P2 AV 0-50	P2 AV 50-100	P2 AV 100-150	P3 AV 0-50	P3 AV 50-100	P4 AV 0-50	P4 AV 50-100	P5 AV 0-50	P5 AV 50-100
HCB	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
4,4'-DDD	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
4,4'-DDE	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
4,4'-DDT	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
Aldrin	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
a-Chlordane	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
g-Chlordane	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
a-Lindane	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
b-Lindane	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
d-Lindane	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
g-Lindane	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
Dieldrin	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
Endosulfan I	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
Endosulfan II	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
Endosulfan SO4	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
Endrin	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
Endrin aldeide	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
Endrin chetone	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
Heptachlor	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
Heptachlor epossido	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
Methoxychlor	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1

Le concentrazioni sia dei PCB che dei pesticidi organoclorurati risultano inferiori al limite di rilevabilità della metodica in tutti i campioni.

### 3.1.7 Idrocarburi alifatici

Nella Tabella 16 sono riportati i risultati degli idrocarburi determinati nei sedimenti delle stazioni di campionamento.

Tabella 16. Risultati delle analisi degli idrocarburi alifatici (C5-C10 e C>10-C40) nei sedimenti campionati ( $\mu\text{g/g}$  s.s.).

Idrocarburi	P1 AV 0-20	P2 AV 0-50	P2 AV 50-100	P2 AV 100-150	P3 AV 0-50	P3 AV 50-100	P4 AV 0-50	P4 AV 50-100	P5 AV 0-50	P5 AV 50-100
C5-C10	1.34	2.90	7.92	3.95	7.80	2.58	1.34	0.99	1.45	0.97
>C10-C40	26.86	20.23	35.02	23.05	45.15	27.78	26.03	28.76	52.85	52.97

Gli idrocarburi sono presenti con concentrazioni basse, comparabili con quelle riscontrate in aree marine costiere non particolarmente impattate.

### 3.1.8 Composti organostannici

Nelle Tabella 17 sono riportati i risultati delle analisi dei composti organostannici determinati nei sedimenti delle stazioni di campionamento.

Tabella 17. Risultati delle analisi dei composti organostannici nei sedimenti campionati (ng/g Sn s.s.).

Organo stannici	P1 AV 0-20	P2 AV 0-50	P2 AV 50-100	P2 AV 100-150	P3 AV 0-50	P3 AV 50-100	P4 AV 0-50	P4 AV 50-100	P5 AV 0-50	P5 AV 50-100	LCB	LCL
<b>TBT</b>	18.13	-	-	-	26.28	-	-	-	12.94	-	5	72
<b>TPhT</b>	93.16	-	-	-	44.40	-	-	-	31.10	-	-	-

I composti organostannici sono presenti come tributil stagno nei campioni P1 AV 0-20 (18.13 ng/g), P3 AV 0-50 (26.28 ng/g) e P5 AV 0-50 (12.94 ng/g). Tali valori sono superiori al valore LCB riportato nel "Manuale per la movimentazione dei sedimenti marini" (ICRAM-APAT, 2007) ed essendo presenti solo negli strati superficiali indicano un'origine recente di tali composti. Negli stessi campioni sono presenti livelli misurabili anche di trifetil stagno, la cui origine è da attribuirsi probabilmente a particolari attività agricole e la valutazione della sua tossicità è da ritenersi minore.

## 3.2 Analisi ecotossicologiche

### 3.2.1 Saggio biologico con *Vibrio fischeri*

Nella Tabella 18 sono riportati i risultati del saggio biologico con il batterio *Vibrio fischeri* applicato all'elutriato.

Le variazioni di bioluminescenza riscontrate in tutti i campioni analizzati possono essere considerate nell'ambito della naturale variabilità misurabile anche nei controlli. Pertanto essi possono essere considerati privi di tossicità acuta, con la sola eccezione del campione P1 AV 0-20 che presenta una lieve risposta.

Tabella 18. Risultati del saggio biologico Microtox® applicato all'elutriato.

Campione	Incubaz.	EC <sub>20</sub> (%)	R <sup>2</sup>	Fattore di correzione	Massimo Effetto (%)	Media ± d.s. (%)	Tossicità	Classe
<b>P 1 AV (0-20)</b>	5'	82,78 (60,52-113,2)	0,9782	1,195			<b>Presente</b>	<b>B</b>
	15'	81,48 (50,80-130,7)	0,9496	1,275				
	30'	77,02 (41,17-144,1)	0,8937	1,300				
<b>P 2 AV (0-50)</b>	5'	>90	-	-	9,350	10,07±1,16	<b>Assente Trascurabile</b>	<b>A</b>
	15'	>90	-	-	9,452			
	30'	>90	-	-	11,40			
<b>P 2 AV (50-100)</b>	5'	>90	-	-	7,766	6,80±0,84	<b>Assente Trascurabile</b>	<b>A</b>
	15'	>90	-	-	6,405			
	30'	>90	-	-	6,240			
<b>P 2 AV (100-150)</b>	5'	>90	-	-	4,139	4,54±0,41	<b>Assente Trascurabile</b>	<b>A</b>
	15'	>90	-	-	4,523			
	30'	>90	-	-	4,966			
<b>P 3 AV (0-50)</b>	5'	>90	-	-	15,58	15,21±0,32	<b>Assente Trascurabile</b>	<b>A</b>
	15'	>90	-	-	15,02			
	30'	>90	-	-	15,02			
<b>P 3 AV (50-100)</b>	5'	>90	-	-	11,88	11,88±0,99	<b>Assente Trascurabile</b>	<b>A</b>
	15'	>90	-	-	10,89			
	30'	>90	-	-	12,86			
<b>P 4 AV (0-50)</b>	5'	>90	-	-	2,429	2,30±0,84	<b>Assente Trascurabile</b>	<b>A</b>
	15'	>90	-	-	1,398			
	30'	>90	-	-	3,070			
<b>P 4 AV (50-100)</b>	5'	>90	-	-	1,614	2,10±0,81	<b>Assente Trascurabile</b>	<b>A</b>
	15'	>90	-	-	1,654			
	30'	>90	-	-	3,036			
<b>P 5 AV (0-50)</b>	5'	>90	-	-	3,617	4,20±1,32	<b>Assente Trascurabile</b>	<b>A</b>
	15'	>90	-	-	5,711			
	30'	>90	-	-	3,276			
<b>P 5 AV (50-100)</b>	5'	>90	-	-	0,6154	-0,56±2,45	<b>Assente Trascurabile</b>	<b>A</b>
	15'	>90	-	-	1,077			
	30'	>90	-	-	-3,384			

### 3.2.2 Saggio biologico con *Paracentrotus lividus*

Nella Tabella 19 sono illustrati i risultati del saggio biologico di sviluppo con l'echinoderma *Paracentrotus lividus* applicato all'elutriato.

Il valore di EC50 ottenuto con il tossico di riferimento ( $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ) è risultato all'interno della carta di controllo del laboratorio (22,60 µg/l - 68,34 µg/l).

I risultati del saggio di embriotossicità hanno evidenziato la presenza una tossicità molto alta nei campioni P1 AV (0-20), in P2 AV (100-150) e nei due livelli della carota P3 AV (0-50 e 50-100); la tossicità è risultata alta nel livello superficiale del campione P2 AV (0-50) ed assente nel livello 50-100. I campioni P4 AV e P5 AV sono risultati privi di tossicità ad entrambi i livelli 0-50 e 50-100.

Tabella 19. Risultati del saggio di sviluppo con *Paracentrotus lividus*.

Campione	Diluizione	% normoformati	SD	EC20/EC50	Tossicità	Classe
<b>SW</b>		86	4,73	-	-	
<b>P 1 AV (0-20)</b>	100	0	0,00		<b>Molto alta</b>	<b>D</b>
	50	0	0,00			
	25	0	0,00			
<b>P 2 AV (0-50)</b>	100	10	5,69	EC50 = 59,79	<b>Alta</b>	<b>C</b>
	50	60	2,00			
	25	75	6,11			
<b>P 2 AV (50-100)</b>	100	69	1,53	EC20 > 90%	<b>Assente Trascurabile</b>	<b>A</b>
	50	88	0,58			
	25	85	3,61			
<b>P 2 AV (100-150)</b>	100	1	1,73	EC50 = 35,81	<b>Molto alta</b>	<b>D</b>
	50	14	11,37			
	25	74	10,50			
<b>P 3 AV (0-50)</b>	100	0	0,00		<b>Molto alta</b>	<b>D</b>
	50	0	0,00			
	25	0	0,00			
<b>P 3 AV (50-100)</b>	100	0	0,00		<b>Molto alta</b>	<b>D</b>
	50	0	0,00			
	25	0	0,00			
<b>P 4 AV (0-50)</b>	100	72	1,53	EC20 > 90%	<b>Assente Trascurabile</b>	<b>A</b>
	50	83	1,73			
	25	83	2,00			
<b>P 4 AV (50-100)</b>	100	76	5,86	EC20 > 90%	<b>Assente Trascurabile</b>	<b>A</b>
	50	80	2,00			
	25	84	2,00			
<b>P 5 AV (0-50)</b>	100	87	1,53	EC20 > 90%	<b>Assente Trascurabile</b>	<b>A</b>
	50	89	1,53			
	25	90	1,00			
<b>P 5 AV (50-100)</b>	100	89	2,31	EC20 > 90%	<b>Assente Trascurabile</b>	<b>A</b>
	50	89	1,15			
	25	88	1,73			

### 3.2.3 Saggio biologico con *Acartia tonsa*

Nella Tabella 20 sono riportati i risultati del saggio acuto con *A. tonsa* condotto sull'elutriato ottenuto dai sedimenti delle stazioni di campionamento.

I risultati del saggio acuto con *A. tonsa* hanno evidenziato la presenza di una tossicità alta nel livello superficiale della carota P3 AV e una tossicità medio/alta nel livello profondo della stessa carota.

Tabella 20. Risultati del saggio di tossicità con *Acartia tonsa*.

Campioni	Durata (h)	Diluizioni			Tossicità	Classe
		100%	50%			
P1 AV (0-20)	24	0	0	0	Assente/trascurabile	A
	48	0	0	0	Assente/trascurabile	A
P2 AV (0-50)	24	0	0	0	Assente/trascurabile	A
	48	0	0	0	Assente/trascurabile	A
P2 AV (50-100)	24	0	0	0	Assente/trascurabile	A
	48	0	0	0	Assente/trascurabile	A
P2 AV (100-150)	24	0	0	0	Assente/trascurabile	A
	48	5,6	0	0	Assente/trascurabile	A
P3 AV (0-50)	24	87,5	16,7	0	Alta	C
	48	100	66,7	0	Alta	C
P3 AV (50-100)	24	25	14,3	0	Media	B
	48	50	14,3	0	Alta	C
P4 AV (0-50)	24	0	0	0	Assente/trascurabile	A
	48	0	0	0	Assente/trascurabile	A
P4 AV (50-100)	24	0	0	0	Assente/trascurabile	A
	48	0	0	0	Assente/trascurabile	A
P5 AV (0-50)	24	0	0	0	Assente/trascurabile	A
	48	0	0	0	Assente/trascurabile	A
P5 AV (50-100)	24	0	0	0	Assente/trascurabile	A
	48	0	0	0	Assente/trascurabile	A

### 3.3 Analisi microbiologiche

Nella Tabella 21 sono riportati i risultati delle analisi microbiologiche sui sedimenti delle stazioni di campionamento che non evidenziano particolarità di rilievo.

Tabella 21. Risultati delle analisi microbiologiche sui campioni di sedimento.

Campione	Coliformi fecali (E. coli) (MPN/g)	Enterococchi fecali (MPN/g)	Salmonella spp in 50 g	Spore di clostridi solfito riduttori (UFC/g)	Stafilococchi (UFC/g)
P1 AV 0-20	<0.3	<0.3	assente	50	<10
P2 AV 0-50	<0.3	<0.3	assente	130	<10
P3 AV 0-50	<0.3	<0.3	assente	136	<10
P4 AV 0-50	<0.3	<0.3	assente	83	<10
P5 AV 0-50	<0.3	<0.3	assente	120	<10

#### 4. CLASSIFICAZIONE INTEGRATA DEI MATERIALI E CONCLUSIONI

Alla luce dei risultati ottenuti, la gran parte dei sedimenti dell'area è caratterizzata prevalentemente dalla presenza di sabbia o ghiaia.

Tra i parametri chimici si segnalano alcuni valori leggermente superiori a LCB per As, Zn e TBT, nonché di naftalene per quanto riguarda i composti organici. I risultati della caratterizzazione chimica sono sostanzialmente confrontabili con quelli già descritti nell'area dell'avamposto nell'aprile 2011, con una contaminazione puntiforme da composti organostannici, dovuta molto probabilmente allo sversamento di materiali antivegetativi; la presenza di tali composti solo negli strati superficiali conferma inoltre uno sversamento recente, e da ritenersi occasionale in quanto non costante nello spazio e nel tempo.

I risultati della batteria di saggi ecotossicologici non sono risultati sempre in linea con quelli chimici. In particolare, a causa della elevata sensibilità del riccio di mare rispetto agli altri due saggi ecotossicologici, si è deciso di dare maggior peso ai risultati complessivi della batteria facendo riferimento a criteri di ponderazione integrata in accordo con le indicazioni UNICHIM (Piva et al., 2011); in quest'ottica, nella elaborazione finale che ha portato alla classificazione dei materiali, i risultati che hanno evidenziato embriotossicità del *Paracentrotus lividus* sono stati declassati (da D a C\*, e da C a B\*).

L'integrazione delle informazioni relative alle caratteristiche fisiche, chimiche ed ecotossicologiche ha portato alla classificazione dei materiali riportata in Tabella 22, dove, per i vari campioni, sono riassunti solo i risultati chimici e biologici che hanno influenzato i risultati dell'elaborazione finale. Nella Tabella 23 sono invece riportate le opzioni di gestione, in ordine di priorità di utilizzo, per le diverse classi di qualità dei materiali.

Tabella 22. Classificazione integrata dei sedimenti campionati nell'avamposto Est.

Campioni	As	Zn	TBT	naftalene		Vibrio fisheri	Paracentrotus lividus	Acartia tonsa		Classificazione
P1 AV 0-20	<LCB	<LCB	>LCB	>LCB		B	C*	AA		B2
P2 AV 0-50	<LCB	<LCB	<LCB	>LCB		A	B*	AA		B2**
P2 100-150	<LCB	<LCB	<LCB	<LCB		A	A	AA		A1
P2 AV 100-150	<LCB	<LCB	<LCB	>LCB		A	C*	AA		B2**
P3 AV 0-50	<LCB	<LCB	>LCB	>LCB		A	C*	CC		B2
P3 AV 100-150	<LCB	<LCB	<LCB	<LCB		A	C*	BC		B1
P4 AV 0-50	<LCB	<LCB	<LCB	>LCB		A	A	AA		A2
P4 AV 50-100	<LCB	<LCB	<LCB	<LCB		A	A	AA		A2
P5 AV 0-50	>LCB	>LCB	>LCB	>LCB		A	A	AA		A2
P5 AV 50-100	>LCL	>LCB	<LCB	>LCB		A	A	AA		B2**

\* I risultati del saggio di embriotossicità su *Paracentrotus lividus* sono stati declassati a causa della elevata sensibilità di risposta di questo saggio (vedi testo).

\*\* Vedi testo successivo per un ulteriore commento.

Tabella 23 - Classi di qualità dei materiali e relative opzioni di gestione in ordine di priorità di utilizzo.

Classe	Opzioni di gestione
A1	Sabbie (pelite < 10%) <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Ripascimento della spiaggia emersa;</b></li> <li>• Ricostruzione di strutture naturali in ambito marino costiero comprese le deposizioni finalizzate al ripristino della spiaggia sommersa;</li> <li>• Riempimenti di banchine e terrapieni in ambito portuale;</li> <li>• Riutilizzi a terra;</li> <li>• Spostamento in ambiente sommerso;</li> <li>• Deposizione in bacini di contenimento;</li> <li>• Immersione in aree marine non costiere.</li> </ul>
A2	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ricostruzione di strutture naturali in ambito marino costiero compresa la deposizione finalizzata al ripristino della <b>spiaggia sommersa</b> (solo nel caso di prevalente composizione sabbiosa) salvo diverse disposizioni di cui alla normativa regionale.</li> <li>• Riempimenti di banchine e terrapieni in ambito portuale;</li> <li>• Riutilizzi a terra;</li> <li>• Spostamento in ambiente sommerso;</li> <li>• Deposizione in bacini di contenimento;</li> <li>• Immersione in aree marine non costiere.</li> </ul>
B1	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Riutilizzi a terra;</li> <li>• Spostamento in ambiente sommerso;</li> <li>• Deposizione in bacini di contenimento che assicurino il trattenimento di tutte le frazioni granulometriche del sedimento sugli argini laterali (incluso il riempimento di banchine).</li> </ul>
B2	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Riutilizzi a terra;</li> <li>• <b>Deposizione all'interno di bacini di contenimento</b> che assicuri il trattenimento di tutte le frazioni granulometriche dei materiali sugli argini laterali e sul fondo.</li> <li>• Smaltimento presso discarica a terra.</li> </ul>
C1	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Rimozione in sicurezza che limiti l'eventuale diffusione della contaminazione e operazioni di recupero;</li> <li>• Rimozione in sicurezza e deposizione in bacini di contenimento che assicuri il trattenimento di tutte le frazioni granulometriche dei materiali sugli argini laterali e sul fondo.</li> <li>• Rimozione in sicurezza e smaltimento alternativo</li> </ul>
C2	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Materiale la cui rimozione e gestione deve essere sottoposta a procedure di particolare cautela ambientale</li> </ul>

I campioni superficiali **P1 AV 0-20** e **P3 AV 0-40** risultano classificati come B2, caratterizzati, oltre che da livelli di naftalene >LCB, anche dalla presenza di TBT e da effetti biologici significativi in almeno 2 saggi biologici. Per questi sedimenti si consiglia il conferimento all'interno di una vasca conterminata, prudentemente impermeabilizzata sia sui lati che sul fondo, per evitare la possibile dispersione nell'ambiente circostante di frazioni contaminate. Si suggerisce anche una tipologia di dragaggio meccanico da attuarsi prima del restante materiale, ed il monitoraggio durante le varie fasi di attività.

Considerazioni simili possono essere fatte per i campioni P2 AV (0-50) e P2 AV (100-150), e per il campione P5 AV (50-100), anch'essi classificati come B2. Tuttavia bisogna sottolineare che tale giudizio deriva per i campioni **P2 AV (0-50 e 100-150)** da un valore leggermente superiore a LCB unicamente per il naftalene, e da una elevata tossicità misurata però soltanto nel saggio di embriotossicità sul riccio. Il campione **P5 AV 50-100** è invece classificato come B2 solo per i livelli di As di poco superiori a LCL, nonostante la completa assenza di effetti di tossicità non permette di confermare una reale biodisponibilità di tale elemento.

Il sedimento **P3 AV 100-150** è stato classificato come B1 in quanto, nonostante l'assenza di livelli preoccupanti di contaminanti chimici, è risultato caratterizzato da un'elevata tossicità nei confronti di due diverse tipologie di saggi; tali risultati suggeriscono il confinamento all'interno di appositi bacini di contenimento.

I campioni **P4 AV 0-50**, **P4 AV 50-100** e **P5 AV 0-50** (quest'ultimo pur con qualche valore chimico >LCB) non hanno mostrato alcuna evidenza di tossicità, risultando pertanto classificabili come materiale A2 che è da ritenersi una risorsa da riutilizzare come riempimento di banchine o per ripascimenti di spiagge sommerse, prevedendo, anche in questo caso, una adeguata attività di monitoraggio.

Le stesse opzioni gestionali potrebbero essere considerate per il materiale **P2 AV 50-100**, classificato addirittura come A1. Tuttavia, la presenza di materiale di classe B negli strati immediatamente superiori ed inferiori suggerisce prudenza per eventuali attività di ripascimento che richiederebbero una ulteriore caratterizzazione ed attente procedure di monitoraggio.

## 5. BIBLIOGRAFIA CITATA

- AA.VV. (2001). Metodologie analitiche di riferimento. Programma di monitoraggio per il controllo dell'ambiente marino-costiero (triennio 2001-2003). A.M. Cicero & I. Di Girolamo (Eds), Ministero Ambiente e Territorio – ICRAM.
- ASTM (1995). Standard guide for conducting static acute toxicity tests with echinoid embryos- E 1563-95. pp. 1029-1046. American Society for Testing and Materials, Philadelphia, pp. 1029-1046.
- ASTM (2004). Standard guide for conducting static acute toxicity tests with echinoid embryos- E 1563-98. American Society for Testing and Materials, Philadelphia.
- Azur Environmental (1995a). Microtox® Acute Toxicity Comparison & Inhibition Test, 30 pp.
- Azur Environmental (1995b). Microtox® Acute Toxicity Solid-Phase Test, 20 pp.
- Bocchetti R., Fattorini D., Pisanelli B., Macchia S., Oliviero L., Pilato F., Pellegrini D., Regoli F. (2008). Contaminant accumulation and biomarker responses in caged mussels, *Mytilus galloprovincialis*, to evaluate bioavailability and toxicological effects of remobilized chemicals during dredging and disposal operations in harbour areas. *Aquat. Toxicol.* 89: 257-266.
- Clementson L. A., Wayte S. E. (1992). The effects of frozen storage of open-ocean seawater sample on the concentration of dissolved Phosphate and Nitrate. *Wat. Res.* 26 (9): 1171-1176.
- Environment Canada (1992). Biological test method: fertilization assay using Echinoids (sea urchins and sand dollars). Environmental Protection Series. EPS 1/RM/27, Ottawa, Canada.
- Fattorini D., Notti A., Di Mento R., Cicero AM., Gabellini M., Russo A., Regoli F. (2008). Seasonal, spatial and inter-annual variations of trace metals in mussels from the Adriatic Sea: a regional gradient for arsenic and implications for monitoring the impact of off-shore activities. *Chemosphere.* 72: 1524–1533.
- Finney L. (1971). Probit Analysis. Cambridge University Press, London, UK.
- Gorbi G., Sei S., Invidia M., Bettoni F. (2006). Toxicity tests on egg/nauplius stages of *Acartia tonsa*: a new bioassay proposal. *Bio. Mar. Medit.*, 131: 1081-1084.
- Hamilton M. A., Russo R. C, Thurston R. V. (1978). Trimmed Spearman-Kärber method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays. *Environ. Sci. Technol.* 12: 714-720.
- ICRAM-APAT (2007). Manuale per la movimentazione dei sedimenti marini. (consultabile sul web all'indirizzo [www.isprambiente.it](http://www.isprambiente.it))

- ISO (2005). Water Quality: Determination of acute toxicity of marine or estuarine sediments to amphipods". ISO method 16712.
- ISO (2006). Water quality: determination of the inhibitory effect of water samples on the light emission of *Vibrio fischeri* (luminescent bacteria test) – part 3: method using freeze-dried bacteria. ISO/CD 11348-3.
- Onorati F., Mecozzi M. (2004). Effects of two diluents in the Microtox toxicity bioassay with marine sediments. *Chemosphere* 54: 679-687.
- Onorati F., Volpi Ghirardini, A. (2001). Informazioni fornite dalle diverse matrici da testare con i saggi biologici: Applicabilità di *Vibrio fischeri*, *Biologia Marina Mediterranea*, 8(2): 41-59.
- Pastorok R.A., Anderson J.W., Butcher M.K., Sexton J.E., Cherr G., Dinnel P., Caldwell R., Chapman P. (1995). Inter- and intralaboratory variability of marine chronic toxicity test methods. *TAPPI Proceedings - International Environmental Conference 2*, pp. 1029-1047.
- 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.
- Savorelli F., Sei S., Gorbi G., Invidia M., Palazzi D., Gelli F., Trentini P.L., Magaletti E. (2006). Evaluation of oil dispersant toxicity: application of the bioassay on the egg/nauplius stages of the copepod *Acartia tonsa*. *Bio. Mar. Medit.*, 131: 1112-1115.
- USACE, UNITED STATES OF AMERICA CORP OF ENGINEERS (1991). Evaluation of dredged material proposed for ocean disposal. Testing Manual USEPA-503-8-90/002: 219 pp.
- US EPA (1991). Standard Operating Procedure Conducting the Sea Urchin *Arbacia punctulata* Fertilization Test. Environmental Research Laboratory, Narragansett, RI, pp 125-131.
- US EPA (1994). Short-Term Methods for Estimating the Chronic Toxicity of Effluents and Receiving Water to Marine and Estuarine Organism. 600-4-91-003, Cincinnati, Ohio.

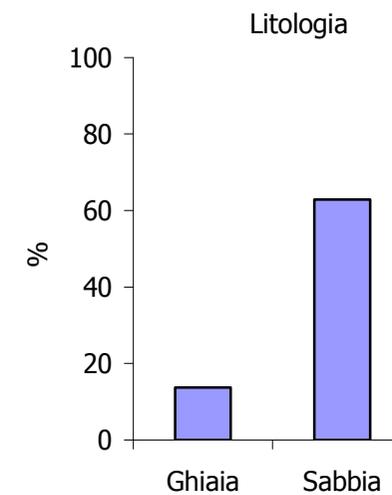
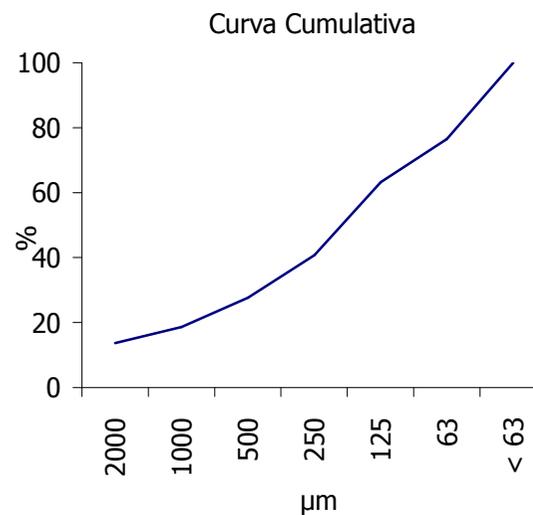
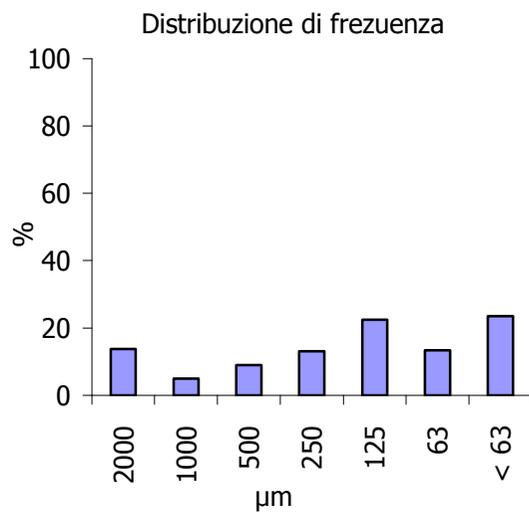
## **APPENDICE 1- SCHEDE GRANULOMETRICHE**



Campione: P1 AV 0-20

$\mu\text{m}$	F. Semplice %	F. Cumulata %
2000	13.72	13.72
1000	4.97	18.69
500	8.95	27.63
250	13.12	40.76
125	22.47	63.22
63	13.32	76.54
< 63	23.46	100.00

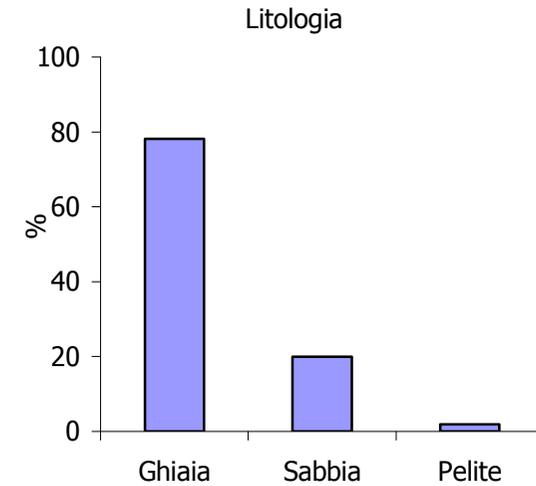
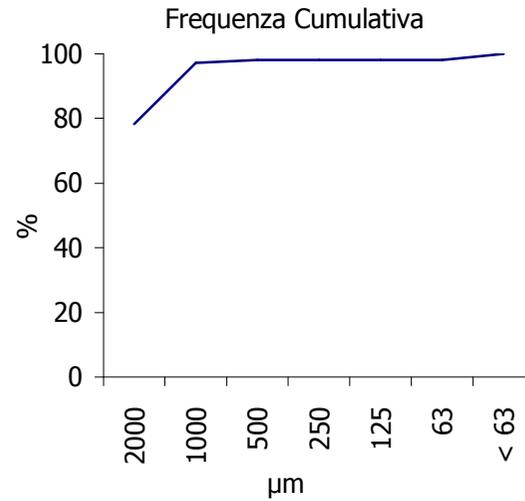
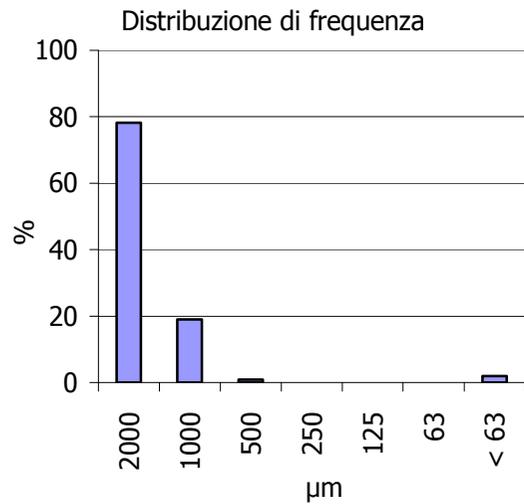
Litologia (%)	
Ghiaia	13.72
Sabbia	62.82
Pelite	23.46



Campione: P2 AV 0-50

$\mu\text{m}$	F. Semplice %	F. Cumulata %
2000	78.20	78.20
1000	19.03	97.23
500	0.87	98.10
250	0.00	98.10
125	0.00	98.10
63	0.00	98.10
< 63	1.90	100.00

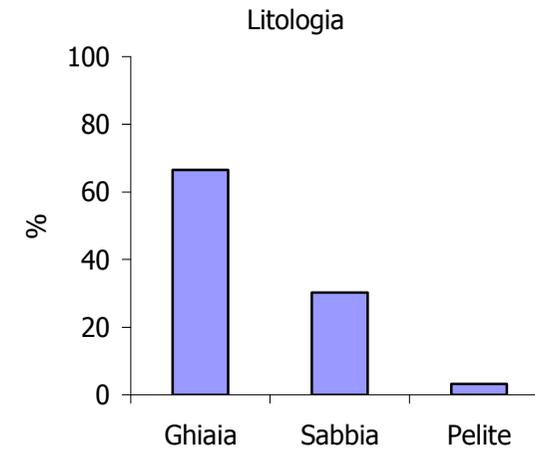
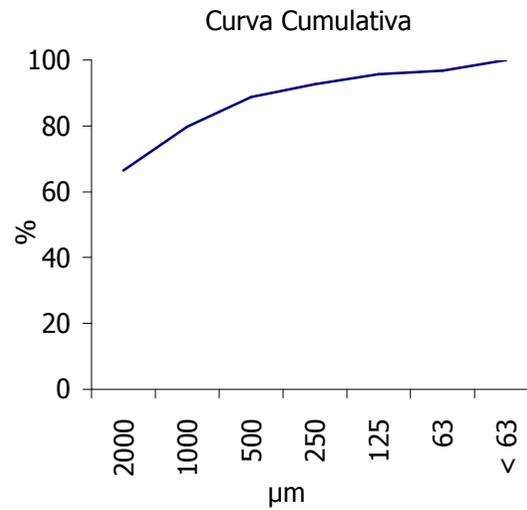
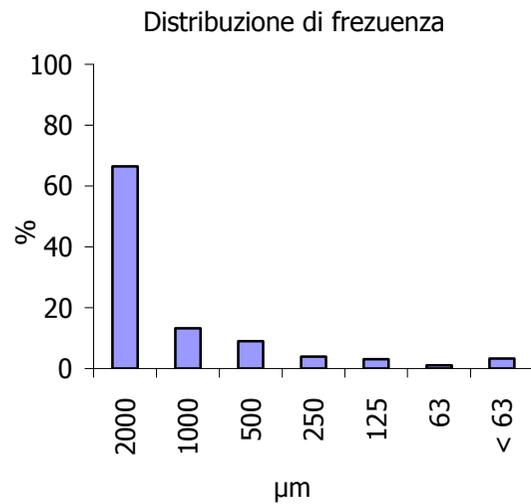
Litologia (%)	
Ghiaia	78.20
Sabbia	19.90
Pelite	1.90



Campione: P2 AV 50-100

$\mu\text{m}$	F. Semplice %	F. Cumulata %
2000	66.53	66.53
1000	13.27	79.80
500	8.98	88.78
250	3.88	92.65
125	3.06	95.71
63	1.02	96.73
< 63	3.27	100.00

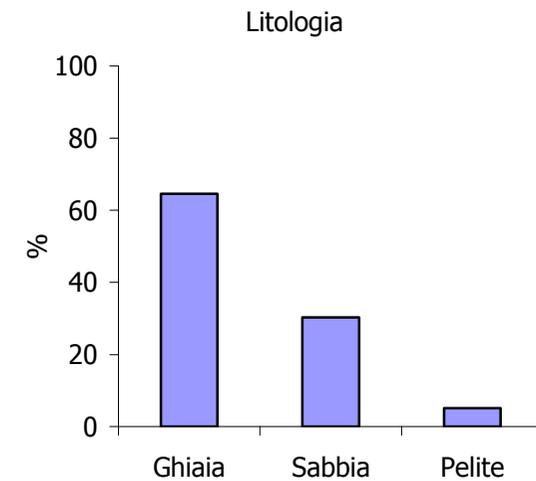
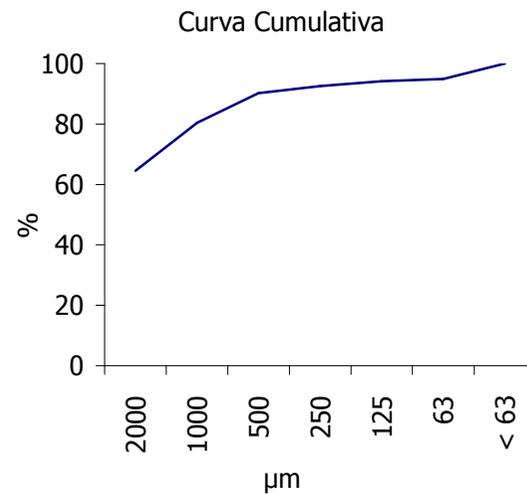
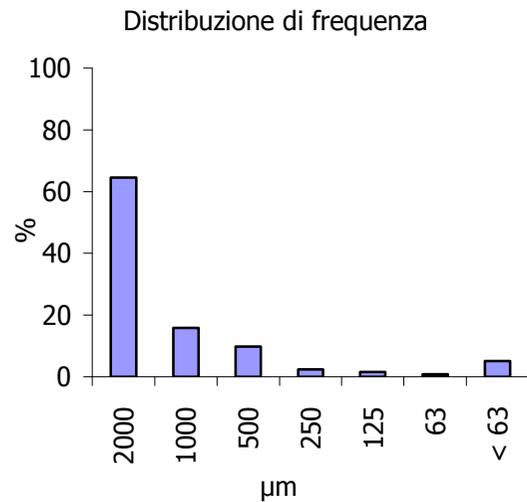
Litologia (%)	
Ghiaia	66.53
Sabbia	30.20
Pelite	3.27



Campione: P2 AV 100-150

$\mu\text{m}$	F. Semplice %	F. Cumulata %
2000	64.58	64.58
1000	15.85	80.43
500	9.78	90.22
250	2.35	92.56
125	1.57	94.13
63	0.78	94.91
< 63	5.09	100.00

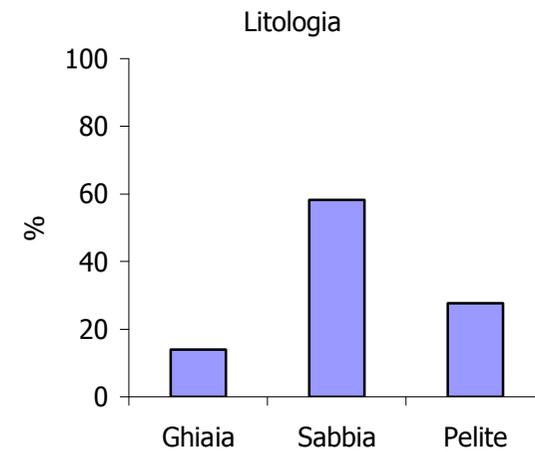
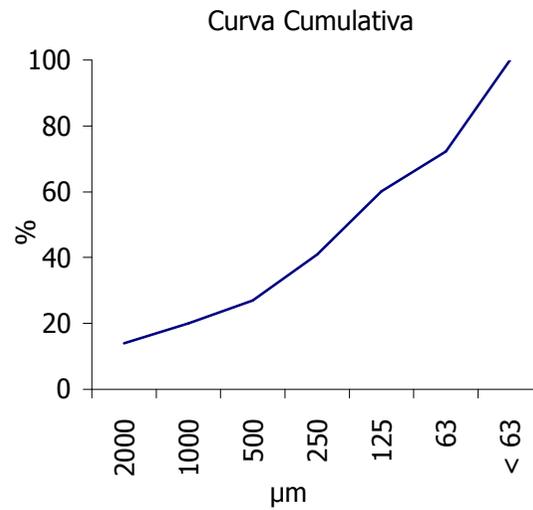
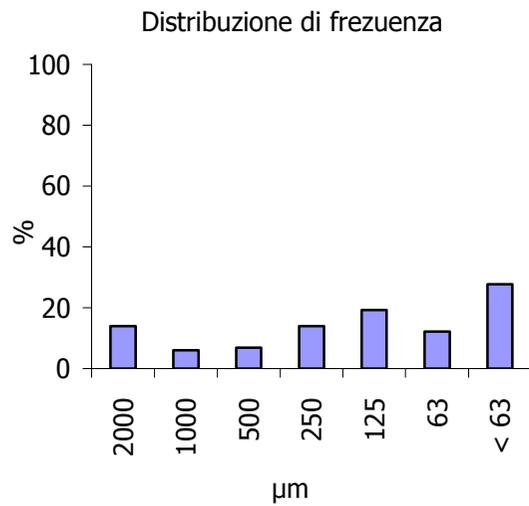
Litologia (%)	
Ghiaia	64.58
Sabbia	30.33
Pelite	5.09



Campione: P3 AV 0-50

$\mu\text{m}$	F. Semplice %	F. Cumulata %
2000	13.98	13.98
1000	6.07	20.05
500	6.86	26.91
250	13.98	40.90
125	19.26	60.16
63	12.14	72.30
< 63	27.70	100.00

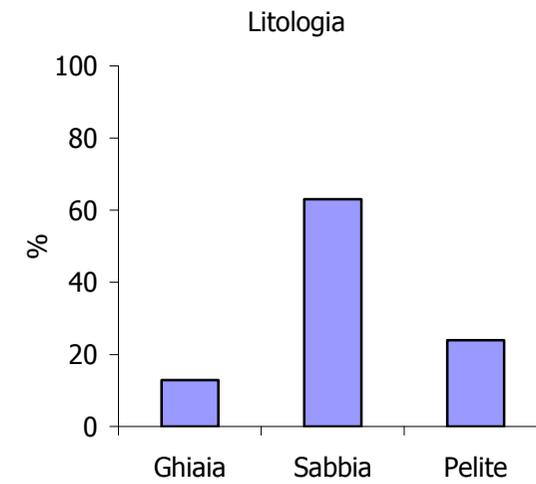
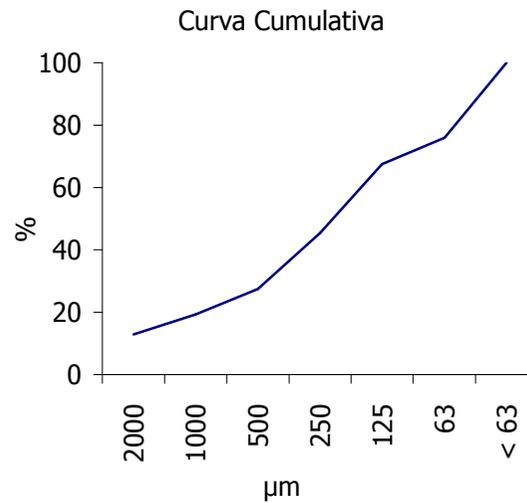
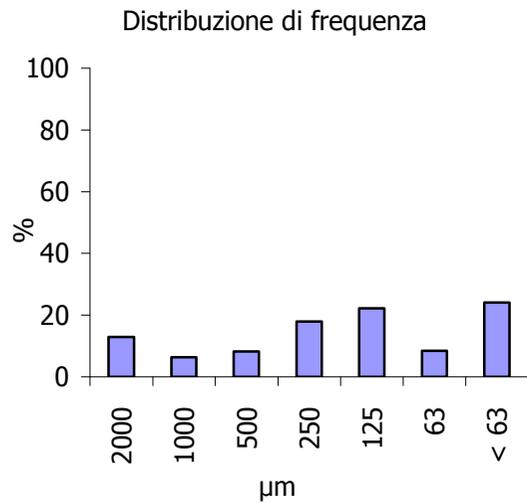
Litologia (%)	
Ghiaia	13.98
Sabbia	58.31
Pelite	27.70



Campione: P3 AV 50-100

$\mu\text{m}$	F. Semplice %	F. Cumulata %
2000	12.93	12.93
1000	6.33	19.26
500	8.18	27.44
250	17.94	45.38
125	22.16	67.55
63	8.44	75.99
< 63	24.01	100.00

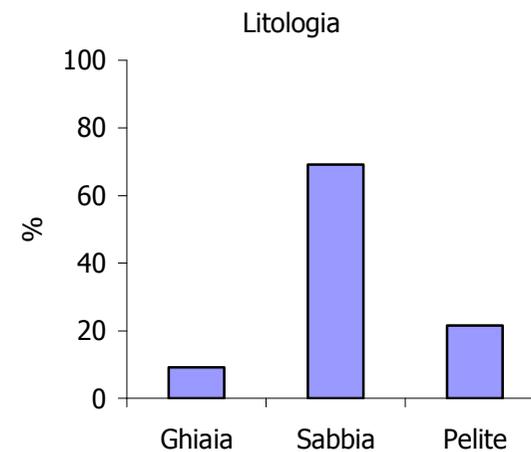
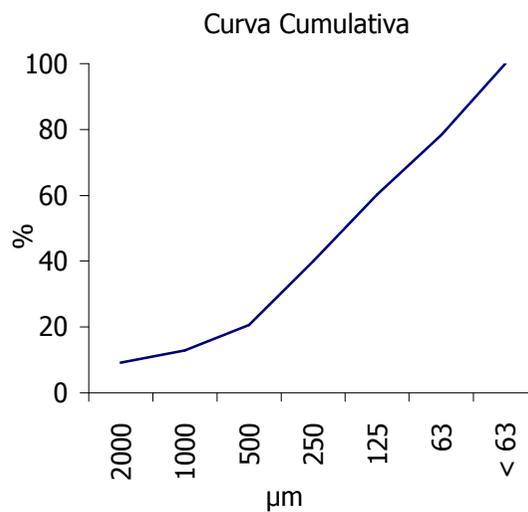
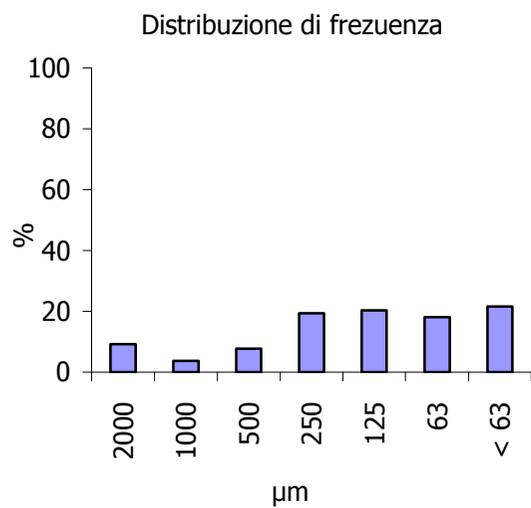
Litologia (%)	
Ghiaia	12.93
Sabbia	63.06
Pelite	24.01



Campione: P4 AV 0-50

$\mu\text{m}$	F. Semplice %	F. Cumulata %
2000	9.18	9.18
1000	3.72	12.90
500	7.69	20.60
250	19.35	39.95
125	20.35	60.30
63	18.11	78.41
< 63	21.59	100.00

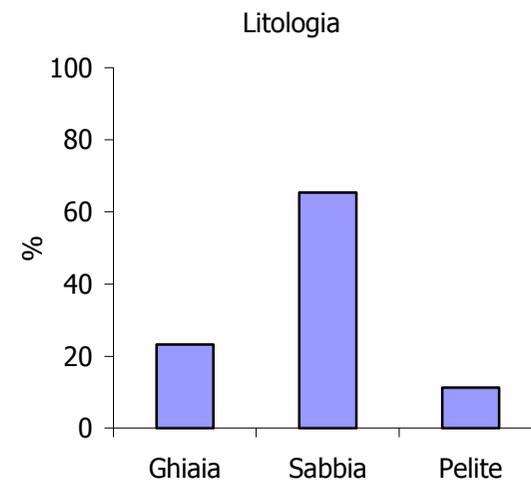
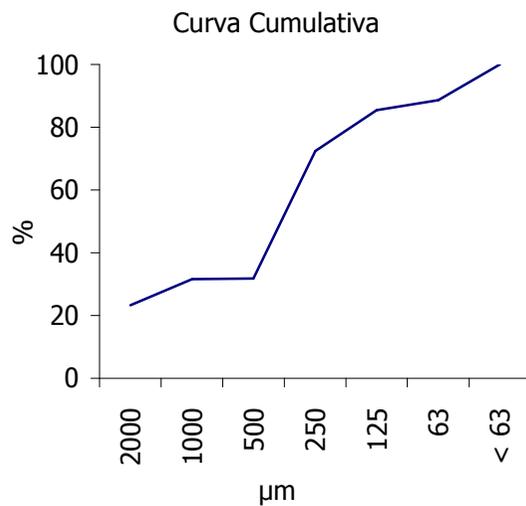
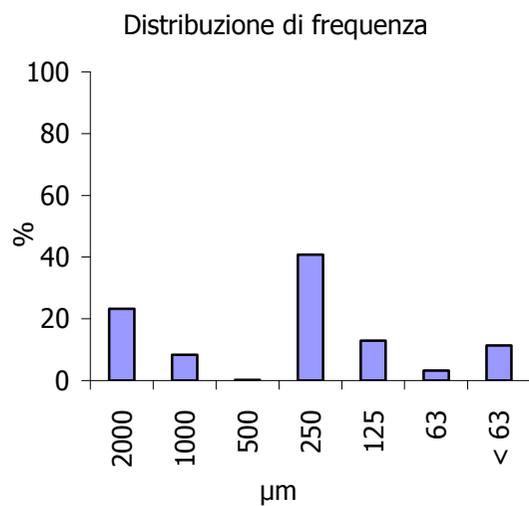
Litologia (%)	
Ghiaia	9.18
Sabbia	69.23
Pelite	21.59



Campione: P4 AV 50-100

$\mu\text{m}$	F. Semplice %	F. Cumulata %
2000	23.28	23.28
1000	8.30	31.58
500	0.20	31.78
250	40.69	72.47
125	12.96	85.43
63	3.24	88.66
< 63	11.34	100.00

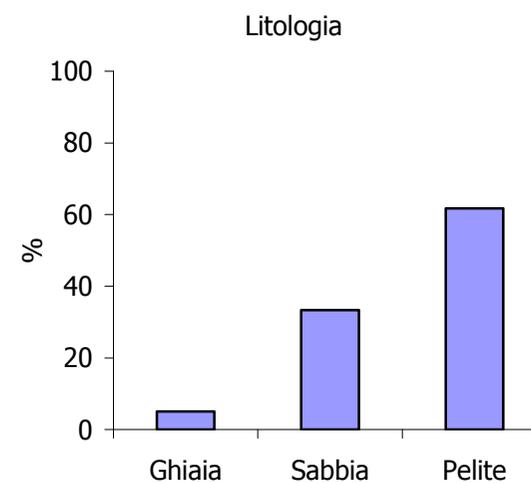
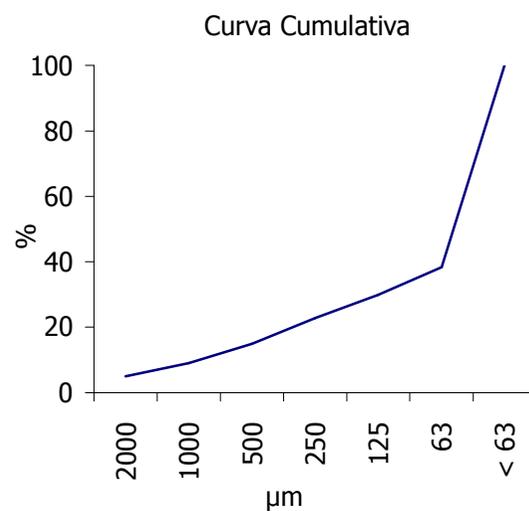
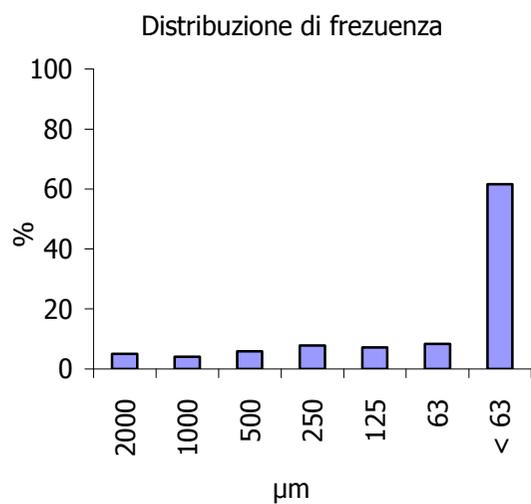
Litologia (%)	
Ghiaia	23.28
Sabbia	65.38
Pelite	11.34



Campione: P5 AV 0-50

$\mu\text{m}$	F. Semplice %	F. Cumulata %
2000	4.98	4.98
1000	4.05	9.03
500	5.92	14.95
250	7.79	22.74
125	7.17	29.91
63	8.41	38.32
< 63	61.68	100.00

Litologia (%)	
Ghiaia	4.98
Sabbia	33.33
Pelite	61.68



Campione: P5 AV 50-100

$\mu\text{m}$	F. Semplice %	F. Cumulata %
2000	1.61	1.61
1000	2.82	4.44
500	2.42	6.85
250	2.42	9.27
125	1.61	10.89
63	1.61	12.50
< 63	87.50	100.00

Litologia (%)	
Ghiaia	1.61
Sabbia	10.89
Pelite	87.50

