

**LAVORI DI DRAGAGGIO DEI FONDALI DEL PORTO COMMERCIALE DI SALERNO E
DEL CANALE D'INGRESSO. IMMERSIONE A MARE DEI SEDIMENTI.**

MONITORAGGIO AMBIENTALE

POST OPERAM

24 mesi dalla fine dei lavori di escavo

Risultati Sedimenti

GRUPPO DI LAVORO

Stazione Zoologica "Anton Dohrn"

Relazione effettuata con il contributo di:

Angela Buonduonno, Marco Cannavacciuolo, Fabio Conversano, Davide Errico, Giulio Franzitta, Roberto Gallia, Claudio Iorio, Augusto Passarelli, Paolo Fasciglione, Rosanna Guglielmo, Sara Verni, Marco Pansera, Viviana Di Tuccio, Vincenzo Rando

In collaborazione con

Università degli Studi di Napoli Parthenope

Vincenzo Pasquale

Università Politecnica delle Marche

Francesco Regoli, Daniele Fattorini, Giuseppe d'Errico, Marta Di Carlo, Sara Propeti, Maura Benedetti, Camilla Latini, Silvia Bianchelli

2023

Indice

1. Premesse e campioni analizzati	1
2. Attività analitiche	2
2.1. Analisi dei parametri fisici e chimici dei sedimenti.....	2
2.1.1. <i>Determinazione del contenuto d'acqua, sostanza organica totale e peso specifico dei sedimenti</i>	2
2.1.2. <i>Azoto totale nei sedimenti</i>	2
2.1.3. <i>Fosforo totale nei sedimenti</i>	3
2.1.4. <i>Determinazione dei metalli in traccia nei sedimenti</i>	3
2.1.5. <i>Determinazione degli idrocarburi policiclici aromatici (IPA) nei sedimenti</i>	5
2.1.6. <i>Determinazione degli idrocarburi alifatici totali (C9-C40) nei sedimenti</i>	6
2.1.7. <i>Determinazione di pesticidi organoclorurati, pesticidi organofosfati, clorofenoli, clorobifenili, policlorobifenili (PCB), polibromo-difenil eteri ed altri ritardanti di fiamma organo brominati nei sedimenti</i>	7
2.1.8. <i>Ulteriori informazioni tecniche sull'esecuzione delle analisi chimiche (materiale standard certificato e percentuale di recupero, limite di quantificazione, incertezza estesa, valutazioni di QA/QC)</i>	9
2.2. Caratterizzazione ecotossicologica dei sedimenti.....	14
2.2.1. <i>Saggio biologico con Aliivibrio fischeri in fase solida</i>	14
2.2.2. <i>Preparazione dell'elutriato per i saggi in fase liquida</i>	15
2.2.3. <i>Saggio biologico con Phaeodactylum tricornutum</i>	16
2.2.4. <i>Saggio di embriotossicità con Crassostrea gigas</i>	17
2.3. Applicazione dei criteri di integrazione ponderata per l'elaborazione dei dati chimici ed ecotossicologici e la valutazione della Classe di Qualità in accordo al DM 173/2016	18
2.3.1. <i>Criteri di integrazione ponderata per l'elaborazione dei dati chimici e la definizione dell'indice di pericolo chimico dei sedimenti</i>	18
2.3.2. <i>Criteri di integrazione ponderata per l'elaborazione dei dati ecotossicologici e la definizione dell'indice di pericolo ecotossicologico dei sedimenti</i>	21
2.3.3. <i>Classificazione ponderata di qualità dei sedimenti</i>	24
3. Risultati e Discussione	25
3.1. Analisi dei parametri fisici e chimici dei sedimenti.....	25
3.1.1. <i>Contenuto d'acqua, sostanza organica totale, peso specifico, azoto totale, fosforo totale e granulometria</i>	25
3.1.2. <i>Analisi chimiche di metalli in traccia, idrocarburi policiclici aromatici, idrocarburi alifatici e contaminanti organici persistenti</i>	28
3.1.3. <i>Classificazione del pericolo chimico dei sedimenti</i>	36
3.2. Risposte ecotossicologiche.....	38
3.2.1. <i>Risultati dei saggi ecotossicologici</i>	38
3.2.3. <i>Classificazione del pericolo ecotossicologico dei sedimenti</i>	42
3.3. Classificazione della qualità dei sedimenti	44
4. Valutazioni complessive e conclusioni	47
5. Bibliografia citata.....	51

1. Premesse e campioni analizzati

Campioni di sedimento

Il campionamento di sedimenti, relativo alla campagna febbraio 2023, ha interessato 3 aree per un totale di 20 campioni; nello specifico, l’area di immersione (campioni A20, A21, A22, A23, A24, A74, A75 e A76), le aree potenzialmente impattate dalle operazioni di dragaggio (campioni A08, A11, A72, A14 e A17) e le aree potenzialmente impattate dalle operazioni di immersione (campioni A47, A50, A53, A59, A62, A65, A68) (Tabella 1.1).

Immediatamente dopo il prelievo, i campioni destinati alle analisi chimiche sono stati congelati e mantenuti alla temperatura di -20°C fino al loro processamento. I campioni destinati alle analisi ecotossicologiche sono stati trasportati in contenitori privi di spazio d’aria presso i laboratori del Dipartimento di Scienze della Vita e dell’Ambiente, dell’Università Politecnica delle Marche, dove sono stati mantenuti a 4 – 6 °C al buio; in accordo al DM 173/2016, entro 7 giorni dal campionamento i sedimenti sono stati analizzati a fresco per l’esecuzione del saggio in fase solida, ed utilizzati per la preparazione degli elutriati, successivamente conservati a -20°C fino all’esecuzione dei saggi su fase liquida.

Tabella 1.1 – Elenco codice campioni sedimenti.

Area di immersione	Aree potenzialmente impattate dalle operazioni di dragaggio	Aree potenzialmente impattate dalle operazioni di immersione
A20	A08	A47
A21	A11	A50
A22	A14	A53
A23	A17	A59
A24	A72	A62
A74		A65
A75		A68
A76		

2. Attività analitiche

2.1. *Analisi dei parametri fisici e chimici dei sedimenti*

Le analisi chimiche sono state effettuate considerando tutti i parametri chimici previsti dal DM n. 173 del 15 luglio 2016 *“Regolamento recante modalità e criteri tecnici per l'autorizzazione all'immersione in mare dei materiali di escavo di fondali marini”*. I risultati analitici ottenuti sono stati successivamente elaborati mediante il software SediQualsoft 109.0[®], applicando i criteri di integrazione ponderata per determinare l'indice di pericolo chimico HQ_C, utilizzato per l'integrazione finale con i risultati ecotossicologici e la classificazione della qualità dei sedimenti (allegato tecnico del DM 173/2016).

2.1.1. *Determinazione del contenuto d'acqua, sostanza organica totale e peso specifico dei sedimenti*

La determinazione del contenuto di umidità residua è stata eseguita come riportato nel D.M. 185 del 13/09/99, mediante perdita di peso per essiccamento. La percentuale d'acqua contenuta nel sedimento è ottenuta dal rapporto tra il peso del sedimento umido e il peso secco, ottenuto in stufa alla temperatura di 105°C per almeno 8 ore. La sostanza organica totale è stimata attraverso il metodo della calcinazione. Esso consiste nella valutazione della differenza tra il peso del sedimento essiccato a 105°C per otto ore e il peso del residuo dopo combustione in muffola a 450°C per quattro ore. La determinazione del peso specifico si basa sul rapporto tra il peso del campione di sedimento e il rispettivo volume ed è espresso in g/cm³.

2.1.2. *Azoto totale nei sedimenti*

La determinazione dell'azoto totale è stata condotta mediante metodi conformi alle specifiche approvate dal DM del 13/09/1999 del Ministero per le Politiche Agricole (Approvazione dei "Metodi ufficiali di analisi chimica del suolo"), utilizzando l'apposito analizzatore elementare Perkin Elmer 2400 (Series II, CHNSO elemental analyzer) ed applicando le specifiche del costruttore. In breve, il principio segue il metodo di Dumas (1831), che prevede una completa ed istantanea ossidazione del campione per "flash combustion", con conseguente conversione di tutte le sostanze organiche ed inorganiche in prodotti gassosi. I gas di combustione vengono fatti passare, in corrente di elio, su strato di opportuno catalizzatore, per completare il processo di ossidazione, e, quindi, su strato di rame, per allontanare l'eccesso di ossigeno e per ridurre gli

ossidi di azoto ad azoto molecolare (N_2). Successivamente, la miscela gassosa viene separata per gascromatografia e CO_2 , N_2 , H_2O e SO_2 vengono rilevati da un detector a conducibilità termica.

Nello specifico, la determinazione dell'azoto totale è stata effettuata depositando aliquote pari a circa 4 mg dei sedimenti essiccati alla temperatura di $55^\circ C$ per almeno 8 ore direttamente all'interno dell'analizzatore elementare automatico, previa taratura dello stesso utilizzando soluzioni standard pure di Acetanilide, come descritto da Buurman et al. (1996). Il risultato finale viene espresso in mg/g di azoto e riferiti al peso secco (ps). Il limite di determinazione (LOD) è pari a 0.1 mg/g (ps).

2.1.3. Fosforo totale nei sedimenti

L'analisi del fosforo totale è stata effettuata secondo specifiche analoghe a quanto descritto da Hansen e Koroleff (1999). In breve, circa 100 mg di sedimento essiccato sono stati calcinati in muffola a $450^\circ C$ per 4 ore. Al sedimento, sono stati aggiunti 10 mL di HCl 1 M, e il campione è stato posto in agitazione per 16 ore a temperatura ambiente. Dopo centrifugazione (4000 rpm, 15 min), la determinazione analitica del contenuto di fosforo totale è stata eseguita nel surnatante mediante metodo spettrofotometrico. Nello specifico, l'ortofosfato (PO_4^{3-}) si determina con il metodo spettrofotometrico al blu di molibdeno, come descritto nel metodo 4110 dei protocolli IRSA-CNR (APAT Manuali e Linee Guida 29/2003), attraverso il kit di determinazione analitica Hach-Lange LCK 348 ed il Fotometro Hach-Lange DR3900 ed applicando le specifiche fornite dal costruttore. Gli ioni fosfato reagiscono con il molibdato di ammonio ed il potassio antimonil tartrato, in ambiente acido, formando un eteropoliacido che viene ridotto con acido ascorbico a blu di molibdeno, intensamente colorato, la cui assorbanza viene misurata alla lunghezza d'onda di 850 nm. Il risultato finale viene espresso in mg/g di fosforo e riferiti al peso calcinato (pc). Il limite di determinazione (LOD) è pari a 0.002 mg/g (pc).

2.1.4. Determinazione dei metalli in traccia nei sedimenti

Per la determinazione dei metalli in traccia, tra cui alluminio (Al), arsenico (As), cadmio (Cd), cromo (Cr), ferro (Fe), manganese (Mn), mercurio (Hg), nichel (Ni), piombo (Pb), rame (Cu), vanadio (V) e zinco (Zn), i campioni di sedimento sono stati accuratamente mescolati al fine di renderli omogenei. Aliquote pari a circa 10 g di sedimento sono state poste in idonee piastre petri in vetro, pesate (peso umido) e mantenute in stufa alla temperatura di $60 \pm 0.5^\circ C$ per almeno 8

ore, al fine di ottenere un peso costante; successivamente i campioni sono stati recuperati e nuovamente pesati (peso secco); il peso umido ed il peso secco dei campioni consente di calcolare il contenuto d'acqua interstiziale associata ai sedimenti, utile a convertire in peso secco le aliquote umide destinate ad altre determinazioni analitiche. Per ciascun punto di prelievo è stata processata una replica di sedimento. I campioni sono stati quindi polverizzati con l'ausilio di un mortaio, ed aliquote omogenee pari a circa 0.5 g sono state trasferite in appositi contenitori per mineralizzazione sotto pressione in forno a microonde, previa addizione di 2 mL di H₂O₂ e 5 mL di HNO₃. La mineralizzazione è stata condotta mediante sistema a microonde CEM Mars 5 (CEM Corporation), dotato di sistema di controllo e regolazione di temperatura e potenza delle microonde. Al termine del ciclo di mineralizzazione i campioni sono stati raffreddati a temperatura ambiente quindi recuperati e portati a volume noto, con acqua ultrapura (10 ml).

La determinazione analitica dei metalli è stata effettuata mediante tecniche di spettrofotometria ad assorbimento atomico; Cu, Fe, Mn e Zn sono stati determinati mediante atomizzazione in fiamma con spettrofotometro SpectrAA 220FS (Agilent Technologies), mentre Al, As, Cd, Cr, Ni, Pb e V sono stati analizzati mediante spettrofotometro SpectrAA 240Z (Agilent Technologies), munito di elettrofornece GTA120 con microforno di grafite ed effetto Zeeman; quando necessario l'interferenza della matrice è stata risolta utilizzando apposite soluzioni di modificatori di matrice (palladio 1 g/L, 10% acido citrico, 20% HNO₃), mentre le interferenze spettrali sono state verificate utilizzando standardizzazioni con metodo delle aggiunte. La determinazione del mercurio (Hg) è stata eseguita tramite generazione di vapori freddi utilizzando un apposito analizzatore di mercurio CETAC QuickTrace M-6100 Mercury Analyzer (Agilent Technologies) munito di auto campionatore ASX-130.

Tutte le determinazioni analitiche sono state effettuate previa calibrazione della strumentazione analizzando apposite soluzioni di bianco e standard di riferimento a concentrazione nota e certificata; i risultati finali sono stati espressi in µg/g (peso secco).

La determinazione dei composti organici dello stagno, è stata effettuata utilizzando un'aliquota omogenea di ciascun campione, pari a circa 2-3 g, addizionata con una soluzione di *n*-esano:acetone (2:1) in un rapporto di 1:3, peso campione rispetto al volume di solvente (m:v). Successivamente, i campioni sono stati estratti utilizzando un sistema di estrazione controllata a microonde, alla temperatura di 110°C per 15 minuti (Microwave Digestion and Extraction System Mars-5, CEM Corporation). Le soluzioni così ottenute sono state concentrate a secchezza,

mediante un evaporatore centrifugo (SpeedVack Juan RC 1009), alla temperatura ambiente. Infine, i campioni sono stati solubilizzati in 1 ml di acido nitrico (HNO₃) e portati a volume noto (2 ml) con acqua ultrapura. Per la quantificazione del TBT, un'aliquota dell'estratto è stata trattata con NaOH 10M per la precipitazione e l'allontanamento delle specie mono- e di- butilate. La successiva determinazione analitica è stata effettuata mediante le tecniche di spettrofotometria ad assorbimento atomico precedentemente descritte, utilizzando tecniche di assorbimento atomico con microforno di grafite ed effetto Zeeman, mediante l'uso di modificatore di matrice (palladio 1 g/L, 10% acido citrico, 20% HNO₃) e applicando standardizzazione con metodo delle aggiunte. Il risultato finale è stato espresso in µg/g riferite al peso secco (p.s.), convertendo il peso umido (p.u.) dei campioni in peso secco, mediante il contenuto d'acqua determinato in precedenza.

2.1.5. Determinazione degli idrocarburi policiclici aromatici (IPA) nei sedimenti

L'analisi degli idrocarburi policiclici aromatici (IPA) è stata effettuata utilizzando un'aliquota omogenea di campione di sedimenti (n=1), pari a circa 2-3 g peso umido. Al momento della preparazione, i campioni sono stati addizionati con 5 ml di una soluzione di KOH 0.5 M in metanolo puro per cromatografia liquida e mantenuti in agitazione per almeno 8 ore, al fine di operare una preliminare estrazione solido-liquido. Il completamento dell'estrazione è stato eseguito mediante microonde a 55°C per 15 min (Microwave Digestion and Extraction System Mars-5, CEM). I campioni sono stati concentrati a circa 0.5 mL mediante centrifuga evaporante (Speedvack, Juan), a 45°C per 60-120 min, successivamente purificati attraverso una cromatografia a bassa pressione con resine per estrazione in fase solida (SPE) del tipo Backerbond SPE C18 (500 mg, 6 ml) ed infine recuperati in 1 ml di acetonitrile puro per cromatografia liquida. Tale purificazione è stata effettuata utilizzando il sistema automatico Gilson Aspec GX271 (Gilson Inc.). Le determinazioni analitiche sono state effettuate mediante tecniche di cromatografia liquida ad elevate prestazioni (HPLC) utilizzando un sistema di pompe per gradiente binario e coppia di detector in fluorescenza e serie di diodi Agilent Infinity 1260 Series (Agilent Technologies).

L'analisi è stata condotta mediante gradiente dinamico utilizzando acqua ultrapura e acetonitrile come fasi mobili. Il volume di campione iniettato è stato pari a 20 µl ed è garantito costante per tutte le analisi utilizzando un apposito auto campionatore. 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, Supelco). Gli analiti determinati mediante il metodo appena descritto possono essere classificati in IPA a basso peso molecolare (acenaftene, acenaftilene, antracene, fenantrene, fluorene e naftalene), IPA ad alto peso molecolare (benzo(a)antracene, benzo(a)pirene, benzo(b)fluorantrene, benzo(g,h,i)perilene, benzo(k)fluorantrene, crisene, dibenzo(a,h)antracene, fluorantrene, indeno(1,2,3-cd)pirene, pirene) ed alcuni IPA metilati (1-metilnaftalene, 2-metilnaftalene e 7,12-dimetilbenzo(a)antracene); l'accuratezza e la precisione analitica sono state verificate analizzando apposite soluzioni di bianco e standard di riferimento. Le concentrazioni sono espresse in ng/g di campione (p.s.), convertendo il peso umido (p.u.) dei campioni in peso secco.

2.1.6. Determinazione degli idrocarburi alifatici totali (C₉-C₄₀) nei sedimenti

La determinazione di idrocarburi alifatici totali (C₁₀-C₄₀) è stata effettuata mediante tecniche di gascromatografia (GC); aliquote pari a circa 2-3 g per ciascun campione di sedimento (n=1) sono state addizionate con una soluzione di *n*-esano:acetone (2:1) in un rapporto di 1:3, peso campione rispetto al 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 (Microwave Digestion and Extraction System Mars-5, CEM Corporation).

Le soluzioni così ottenute 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, oltre a resine del tipo Strata-FL (Phenomenex, FL-PR) da 1000 mg e 6 ml, utilizzando il sistema automatico Gilson Aspec GX271. I campioni eluiti con l'ausilio di soluzioni di acetone ed esano sono stati raccolti in appositi tubi 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 1 ml di *n*-esano. L'analisi degli idrocarburi alifatici è stata effettuata mediante gascromatografia con detector a ionizzazione di fiamma (FID) (Perkin Elmer Clarus 500); la determinazione quantitativa è stata effettuata calibrando il sistema mediante uno standard puro costituito da un mix di specie chimiche di idrocarburi con numero di carbonio compreso tra C₉ a C₄₀, lineari ed insaturi; i risultati

finali sono stati espressi in $\mu\text{g/g}$ (peso secco), convertendo il peso umido (p.u.) dei campioni in peso secco.

2.1.7. Determinazione di pesticidi organoclorurati, pesticidi organofosfati, clorofenoli, clorobifenili, policlorobifenili (PCB), polibromo-difenil eteri ed altri ritardanti di fiamma organo brominati nei sedimenti

Nella Tabella 2.1 viene riportata la lista completa dei pesticidi organoclorurati, pesticidi organofosfati, clorofenoli, clorobifenili, policlorobifenili, polibromo-difenil eteri ed altri ritardanti di fiamma organo brominati che sono stati analizzati nei sedimenti ($n=1$). La preparazione dei campioni è analoga a quella già descritta nel precedente paragrafo (*Determinazione degli idrocarburi alifatici totali C10-C40*). Per quanto riguarda le determinazioni analitiche, queste sono state effettuate mediante gascromatografia accoppiata a spettrometro di massa con singolo quadrupolo (Agilent Technology). 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, apposite soluzioni a diverse concentrazioni di standard analitici puri, oltre a standard di riferimento a concentrazione nota e certificata, e miscele di standard puri a concentrazioni note delle varie classi di contaminanti. Le concentrazioni sono state espresse in ng/g riferite al peso secco dei campioni, convertendo il peso umido (p.u.) dei campioni in peso secco.

Tabella 2.1 - elenco dei contaminanti organici persistenti analizzati.

<u><i>Pesticidi clorurati (EPA 8081)</i></u>	<u><i>Fenoli clorurati</i></u>	<u><i>PCB (continua):</i></u>
Aldrina	2-Clorofenolo	PCB70
α -Clordano	4-Clorofenolo	PCB77
γ -Clordano	2,4-Diclorofenolo	PCB81
p,p'-DDD	2,4,6-Triclorofenolo	PCB90
p,p'-DDE		PCB101
p,p'-DDT		PCB105
Dieldrina	<u><i>Clorobifenili</i></u>	PCB118
Endosulfano I		PCB126
Endosulfano II	2-Clorobifenile	PCB127
Endosulfano (solfato)	3-Clorobifenile	PCB128
Endrina	4-Clorobifenile	PCB130
Endrina (aldeide)		PCB138
Endrina (chetone)		PCB146
Eptacloro	<u><i>Policlorobifenili (PCB):</i></u>	PCB153
Eptacloro (epossido)		PCB156
α -Lindano	PCB4	PCB169
β -Lindano	PCB7	PCB170
δ -Lindano	PCB8	PCB175
γ -Lindano	PCB11	PCB180
Metossicloro	PCB13	PCB182
	PCB15	PCB187
	PCB16	PCB195
<u><i>Altri pesticidi clorurati</i></u>	PCB17	PCB206
	PCB18	PCB209
Diclorobenzidina	PCB19	
Esaclorobenzene	PCB23	
Esaclorobutadiene	PCB26	<u><i>Polibromodifenileteri ed altri</i></u>
Mirex	PCB28	<u><i>ritardanti di fiamma brominati</i></u>
	PCB32	
	PCB33	PBDE28
<u><i>Pesticidi organofosfati</i></u>	PCB36	PBDE47
	PCB38	PBDE99
Azinphos-methyl	PCB40	PBDE100
Chlorpyrifos	PCB42	PBDE153
Dichlorvos	PCB44	PBDE154
Disulfoton	PCB45	PBDE183
Ethoprophos	PCB46	Esabromociclododecano
Fenclorophos	PCB47	Tetrabromobisfenolo-A
Metilparathion	PCB52	
Metolcarb	PCB58	
Prothiofos	PCB66	

2.1.8. Ulteriori informazioni tecniche sull'esecuzione delle analisi chimiche (materiale standard certificato e percentuale di recupero, limite di quantificazione, incertezza estesa, valutazioni di QA/QC)

I metodi di preparazione dei campioni e di determinazione analitica descritti sono stati accuratamente testati e validati analizzando periodicamente soluzioni di bianco (solo reagenti puri trattati nelle medesime condizioni dei campioni analitici) ed apposite matrici di riferimento con standard certificati. Per quanto riguarda i bianchi, questi hanno sempre mostrato risultati al di sotto dei limiti di misurazione strumentale, lasciando quindi escludere fenomeni di inavvertita contaminazione o di interferenze analitiche non conosciute.

Per quanto concerne invece le matrici certificate di riferimento, sono stati utilizzati appositi standard tra i quali: NIST 1944 (New York/New Jersey Waterway Sediment), NIST 2976 (Trace elements and Methylmercury in Mussel Tissues), NIST 2974a (Organics in freeze-dried mussel tissue), ERM-CE278k (Certified Reference Material, Mussel Tissue). Aliquote di questi standard sono state preparate ed analizzate periodicamente con le medesime condizioni descritte in precedenza. L'errore analitico, seppur con alcune variazioni che dipendono dalle differenti metodologie adottate, si aggira sempre tra circa 1.5% e 3%, determinato come coefficiente di variazione percentuale della deviazione standard riferita alla media dei valori ottenuti su un numero di repliche pari ad almeno 5; tale incertezza rientra pertanto sempre abbondantemente all'interno del range di variabilità descritto per i valori certificati (deviazioni standard). Le rese analitiche risultano generalmente sempre comprese tra il 95% ed il 97% dei valori certificati. La Tabella 2.2 riporta le specifiche dei metodi analitici, i livelli di riferimento L1 e L2 previsti dal DM 173/2016 e i valori di LOD per ciasun analita.

Tabella 2.2 - Specifiche dei metodi analitici adottati per ciascun analita, valori limite L1 e L2 del DM 173/2016 e valori di LOD.

Analita	u.m.	Metodo	Decreto 173/2016		LOD
			L1	L2	
Al	µg/g (p.s.)	AAS/Zeeman			0.1
As	µg/g (p.s.)	AAS/Zeeman	12	20	0.05
Cd	µg/g (p.s.)	AAS/Zeeman	0.3	0.8	0.002
Cr	µg/g (p.s.)	AAS/Zeeman	50	150	0.005
Cu	µg/g (p.s.)	AAS/Fiamma	40	52	0.02
Fe	µg/g (p.s.)	AAS/Fiamma			0.5
Hg	µg/g (p.s.)	AAS/Vapori freddi	0.3	0.8	0.0005
Mn	µg/g (p.s.)	AAS/Fiamma			0.5
Ni	µg/g (p.s.)	AAS/Zeeman	30	75	0.05
Pb	µg/g (p.s.)	AAS/Zeeman	30	70	0.05
Sn	µg/g (p.s.)	AAS/Zeeman			0.0005
V	µg/g (p.s.)	AAS/Zeeman			0.05
Zn	µg/g (p.s.)	AAS/Fiamma	100	150	0.5
TBT	µg/g (p.s.)	AAS/Fiamma	0.005		0.0005
Composti organostannici totali	µg/g (p.s.)	AAS/Zeeman		0.072	0.0005
>C9-C10	µg/g (p.s.)	GD/FID			0.01
>C10-C11	µg/g (p.s.)	GD/FID			0.01
>C11-C12	µg/g (p.s.)	GD/FID			0.01
>C12-C13	µg/g (p.s.)	GD/FID			0.01
>C13-C14	µg/g (p.s.)	GD/FID			0.01
>C14-C15	µg/g (p.s.)	GD/FID			0.01
>C15-C16	µg/g (p.s.)	GD/FID			0.01
>C16-C17	µg/g (p.s.)	GD/FID			0.01
>C17-C18	µg/g (p.s.)	GD/FID			0.01
>C18-C19	µg/g (p.s.)	GD/FID			0.01
>C19-C20	µg/g (p.s.)	GD/FID			0.01
>C20-C21	µg/g (p.s.)	GD/FID			0.01
>C21-C22	µg/g (p.s.)	GD/FID			0.01
>C22-C23	µg/g (p.s.)	GD/FID			0.01
>C23-C24	µg/g (p.s.)	GD/FID			0.01
>C24-C25	µg/g (p.s.)	GD/FID			0.01
>C25-C26	µg/g (p.s.)	GD/FID			0.01
>C26-C27	µg/g (p.s.)	GD/FID			0.01
>C27-C28	µg/g (p.s.)	GD/FID			0.01
>C28-C29	µg/g (p.s.)	GD/FID			0.01
>C29-C30	µg/g (p.s.)	GD/FID			0.01
>C30-C31	µg/g (p.s.)	GD/FID			0.01
>C31-C32	µg/g (p.s.)	GD/FID			0.01
>C32-C33	µg/g (p.s.)	GD/FID			0.01
>C33-C34	µg/g (p.s.)	GD/FID			0.01
>C34-C35	µg/g (p.s.)	GD/FID			0.01
>C35-C36	µg/g (p.s.)	GD/FID			0.01
>C36-C37	µg/g (p.s.)	GD/FID			0.01
>C37-C38	µg/g (p.s.)	GD/FID			0.01
>C38-C39	µg/g (p.s.)	GD/FID			0.01
>C39-C40	µg/g (p.s.)	GD/FID			0.01
Totali (C10-C40)	µg/g (p.s.)	integrazione		50	0.01
Naftalene	ng/g (p.s.)	HPLC/DAD/FLD	35	391	0.1
Acenaftilene	ng/g (p.s.)	HPLC/DAD/FLD			0.05
1-Metilnaftalene	ng/g (p.s.)	HPLC/DAD/FLD			0.1
2-Metilnaftalene	ng/g (p.s.)	HPLC/DAD/FLD			0.1
Acenaftene	ng/g (p.s.)	HPLC/DAD/FLD			0.01
Fluorene	ng/g (p.s.)	HPLC/DAD/FLD	21	144	0.01

Monitoraggio *Post-Operam* 24 mesi – Risultati Sedimenti



Analita	u.m.	Metodo	Decreto 173/2016		LOD
			L1	L2	
Fenantrene	ng/g (p.s.)	HPLC/DAD/FLD	87	544	0.01
Antracene	ng/g (p.s.)	HPLC/DAD/FLD	24	245	0.01
Fluorantene	ng/g (p.s.)	HPLC/DAD/FLD	110	1494	0.01
Pirene	ng/g (p.s.)	HPLC/DAD/FLD	153	1398	0.01
Benzo(a)antracene	ng/g (p.s.)	HPLC/DAD/FLD	75	500	0.01
Crisene	ng/g (p.s.)	HPLC/DAD/FLD	108	846	0.01
7.12-Dimetilbenzo(a)antracene	ng/g (p.s.)	HPLC/DAD/FLD			0.05
Benzo(b)fluorantene	ng/g (p.s.)	HPLC/DAD/FLD	40	500	0.001
Benzo(k)fluorantene	ng/g (p.s.)	HPLC/DAD/FLD	20	500	0.001
Benzo(a)pirene	ng/g (p.s.)	HPLC/DAD/FLD	30	100	0.001
Dibenzo(ah)antracene	ng/g (p.s.)	HPLC/DAD/FLD			0.001
Benzo(ghi)perilene	ng/g (p.s.)	HPLC/DAD/FLD	55	100	0.001
Indeno(123cd)pirene	ng/g (p.s.)	HPLC/DAD/FLD	70	100	0.05
IPA Totali	ng/g (p.s.)	HPLC/DAD/FLD	900	4000	0.001
Aldrin	ng/g (p.s.)	GC/MS	0.2	10	0.1
a-Chlordane	ng/g (p.s.)	GC/MS	2.3	4.8	0.1
g-Chlordane	ng/g (p.s.)	GC/MS	2.3	4.8	0.1
P,p'-DDD	ng/g (p.s.)	GC/MS	0.8	7.8	0.1
p,p'-DDE	ng/g (p.s.)	GC/MS	1.8	3.7	0.1
p,p'-DDT	ng/g (p.s.)	GC/MS	1	4.8	0.1
Dichlorobenzidine	ng/g (p.s.)	GC/MS			0.1
Dieldrin	ng/g (p.s.)	GC/MS	0.7	4.3	0.1
Endosulfan I	ng/g (p.s.)	GC/MS			0.1
Endosulfan II	ng/g (p.s.)	GC/MS			0.1
Endosulfan sulfate	ng/g (p.s.)	GC/MS			0.1
Endrin	ng/g (p.s.)	GC/MS	2.7	10	0.1
Endrin aldehyde	ng/g (p.s.)	GC/MS			0.1
Endrin ketone	ng/g (p.s.)	GC/MS			0.1
Heptachlor	ng/g (p.s.)	GC/MS			0.1
Heptachlor epoxide	ng/g (p.s.)	GC/MS	0.6	2.7	0.1
Hexachlorobenzene	ng/g (p.s.)	GC/MS	0.4	50	0.1
Hexachlorobutadiene	ng/g (p.s.)	GC/MS			0.1
a-Lindane	ng/g (p.s.)	GC/MS	0.2	10	0.1
b-Lindane	ng/g (p.s.)	GC/MS	0.2	10	0.1
d-Lindane	ng/g (p.s.)	GC/MS			0.1
g-Lindane	ng/g (p.s.)	GC/MS	0.2	1	0.1
Methoxychlor	ng/g (p.s.)	GC/MS			0.1
Mirex	ng/g (p.s.)	GC/MS			0.1
2-Chlorophenol	ng/g (p.s.)	GC/MS			0.1
4-Chlorophenol	ng/g (p.s.)	GC/MS			0.1
2,4-Dichlorophenol	ng/g (p.s.)	GC/MS			0.1
2,4,6-Trichlorophenol	ng/g (p.s.)	GC/MS			0.1
2-Chlorobiphenyl	ng/g (p.s.)	GC/MS			0.1
3-Chlorobiphenyl	ng/g (p.s.)	GC/MS			0.1
4-Chlorobiphenyl	ng/g (p.s.)	GC/MS			0.1
PCB4	ng/g (p.s.)	GC/MS			0.1
PCB7	ng/g (p.s.)	GC/MS			0.1
PCB8	ng/g (p.s.)	GC/MS			0.1
PCB11	ng/g (p.s.)	GC/MS			0.1
PCB13	ng/g (p.s.)	GC/MS			0.1
PCB15	ng/g (p.s.)	GC/MS			0.1
PCB16	ng/g (p.s.)	GC/MS			0.1
PCB17	ng/g (p.s.)	GC/MS			0.1
PCB18	ng/g (p.s.)	GC/MS			0.1
PCB19	ng/g (p.s.)	GC/MS			0.1
PCB23	ng/g (p.s.)	GC/MS			0.1
PCB26	ng/g (p.s.)	GC/MS			0.1

Monitoraggio *Post-Operam* 24 mesi – Risultati Sedimenti



Analita	u.m.	Metodo	Decreto 173/2016		LOD
			L1	L2	
PCB28	ng/g (p.s.)	EPA 1668C 2010			0.02
PCB32	ng/g (p.s.)	GC/MS			0.1
PCB33	ng/g (p.s.)	GC/MS			0.1
PCB36	ng/g (p.s.)	GC/MS			0.1
PCB38	ng/g (p.s.)	GC/MS			0.1
PCB40	ng/g (p.s.)	GC/MS			0.1
PCB42	ng/g (p.s.)	GC/MS			0.1
PCB44	ng/g (p.s.)	GC/MS			0.1
PCB45	ng/g (p.s.)	GC/MS			0.1
PCB46	ng/g (p.s.)	GC/MS			0.1
PCB47	ng/g (p.s.)	GC/MS			0.1
PCB52	ng/g (p.s.)	EPA 1668C 2010			0.02
PCB58	ng/g (p.s.)	GC/MS			0.1
PCB66	ng/g (p.s.)	GC/MS			0.1
PCB70	ng/g (p.s.)	GC/MS			0.1
PCB77	ng/g (p.s.)	EPA 1668C 2010			0.005
PCB81	ng/g (p.s.)	EPA 1668C 2010			0.001
PCB90	ng/g (p.s.)	GC/MS			0.1
PCB101	ng/g (p.s.)	EPA 1668C 2010			0.02
PCB105	ng/g (p.s.)	EPA 1668C 2010			0.005
PCB114	ng/g (p.s.)	EPA 1668C 2010			0.001
PCB118	ng/g (p.s.)	EPA 1668C 2010			0.01
PCB123	ng/g (p.s.)	EPA 1668C 2010			0.001
PCB126	ng/g (p.s.)	EPA 1668C 2010			0.001
PCB127	ng/g (p.s.)	GC/MS			0.1
PCB128	ng/g (p.s.)	EPA 1668C 2010			0.01
PCB130	ng/g (p.s.)	GC/MS			0.1
PCB138	ng/g (p.s.)	EPA 1668C 2010			0.05
PCB146	ng/g (p.s.)	GC/MS			0.1
PCB153	ng/g (p.s.)	EPA 1668C 2010			0.05
PCB156	ng/g (p.s.)	EPA 1668C 2010			0.005
PCB157	ng/g (p.s.)	EPA 1668C 2010			0.001
PCB167	ng/g (p.s.)	EPA 1668C 2010			0.001
PCB169	ng/g (p.s.)	EPA 1668C 2010			0.001
PCB170	ng/g (p.s.)	GC/MS			0.1
PCB175	ng/g (p.s.)	GC/MS			0.1
PCB180	ng/g (p.s.)	EPA 1668C 2010			0.02
PCB182	ng/g (p.s.)	GC/MS			0.1
PCB187	ng/g (p.s.)	GC/MS			0.1
PCB189	ng/g (p.s.)	EPA 1668C 2010			0.001
PCB195	ng/g (p.s.)	GC/MS			0.1
PCB206	ng/g (p.s.)	GC/MS			0.1
PCB209	ng/g (p.s.)	GC/MS			0.1
PCB Totali	ng/g (p.s.)	EPA 1668C 2010	8	60	0.1
Azinphos-methyl	ng/g (p.s.)	GC/MS			0.1
Chlorpyrifos	ng/g (p.s.)	GC/MS			0.1
Dichlorvos	ng/g (p.s.)	GC/MS			0.1
Disulfoton	ng/g (p.s.)	GC/MS			0.1
Ethoprophos	ng/g (p.s.)	GC/MS			0.1
Fenchlorphos	ng/g (p.s.)	GC/MS			0.1
Methyl parathion	ng/g (p.s.)	GC/MS			0.1
Metolcarb	ng/g (p.s.)	GC/MS			0.1
Prothiofos	ng/g (p.s.)	GC/MS			0.1
PBDE28	ng/g (p.s.)	GC/MS			0.1
PBDE47	ng/g (p.s.)	GC/MS			0.1
PBDE99	ng/g (p.s.)	GC/MS			0.1
PBDE100	ng/g (p.s.)	GC/MS			0.1
PBDE153	ng/g (p.s.)	GC/MS			0.1

Monitoraggio *Post-Operam* 24 mesi – Risultati Sedimenti



Analita	u.m.	Metodo	Decreto 173/2016		LOD
			L1	L2	
PBDE154	ng/g (p.s.)	GC/MS			0.1
PBDE183	ng/g (p.s.)	GC/MS			0.1
Hexabromocyclododecane	ng/g (p.s.)	GC/MS			0.1
Tetrabromobisphenol A	ng/g (p.s.)	GC/MS			0.1

2.2. Caratterizzazione ecotossicologica dei sedimenti

Le analisi ecotossicologiche dei sedimenti sono state effettuate applicando una batteria di saggi (bioluminescenza batterica in fase solida, crescita algale ed embriotossicità su fase liquida), secondo quanto previsto dal DM n. 173 del 15 luglio 2016 “*Regolamento recante modalità e criteri tecnici per l'autorizzazione all'immersione in mare dei materiali di escavo di fondali marini*”. I risultati analitici ottenuti sono stati successivamente elaborati mediante il software SediQualsoft 109.0[®], applicando i criteri di integrazione ponderata per determinare l'indice di qualità ecotossicologica $HQ_{batteria}$, utilizzato per l'integrazione finale con i risultati chimici e la classificazione della qualità dei sedimenti (allegato tecnico del DM 173/2016).

2.2.1. Saggio biologico con *Aliivibrio fischeri* in fase solida

Aliivibrio fischeri è un batterio marino Gram-negativo ed eterotrofo, appartenente alla famiglia delle Vibrionaceae. È cosmopolita, ma con maggior diffusione nelle fasce temperate e subtropicali.

Il sistema Microtox[®] è un test biologico di tossicità acuta basato sulla misura della bioluminescenza naturale di questa specie. Poiché in presenza di contaminanti l'emissione di luce da parte di *A. fischeri* diminuisce, l'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 testata. Il sistema di misura risulta piuttosto versatile in quanto è applicabile a matrici naturali, in particolare acquose (acqua interstiziale, elutriato, ecc.) e solide (fanghi, sedimenti), nonché a soluzioni acquose di sostanze tossiche pure sia organiche che inorganiche.

Protocolli di riferimento e procedura adottata

Questo saggio è stato applicato entro 7 giorni dal campionamento direttamente alla fase solida, preparata per semplice centrifugazione refrigerata (1200 xg a 4°C per 30'), eliminando successivamente l'acqua interstiziale come sovrantante. Il metodo utilizzato è riconducibile al protocollo standard ISO 11348 (2006). In particolare, ai campioni di sedimento centrifugato è stato applicato il protocollo Solid Phase Test (SPT) con la procedura Large Sample Method (Azur Environmental, 1995) organizzato con 9-12 diluizioni e 3 controlli a seconda della granulometria

del campione. Il test prevede una prima esposizione di 20 minuti durante i quali i batteri si trovano a diretto contatto con il sedimento ed una seconda fase di ulteriori 10 minuti in cui la risospensione batterica viene incubata nel luminometro.

Poiché il test in fase solida viene effettivamente applicato sulla frazione granulometrica < 1 mm e poiché la componente naturale della tossicità è funzione della frazione pelitica, l'analisi granulometrica è stata necessaria per la valutazione del reale livello di tossicità acuta. L'emissione della bioluminescenza è stata misurata all'interno del luminometro M500, dotato di pozzetti termostatati a 15 °C per i controlli e i campioni, e a 4°C per il reagente. La relazione dose-risposta, ovvero concentrazione del campione-inibizione della bioluminescenza, è stata elaborata mediante il software dedicato (Microtox Omni™ v. 1.16).

Caratteristiche granulometriche dei sedimenti testati in fase solida

Per la determinazione delle caratteristiche granulometriche dei sedimenti marini, ogni campione (circa 70 g), è stato trattato con una soluzione di perossido di idrogeno ed acqua distillata (1:8) per 48 h a temperatura ambiente, per facilitare la separazione dei granuli. Successivamente il campione di sedimento è stato setacciato su maglia 63 μm in umido con acqua distillata, al fine di ottenere la separazione di due frazioni, che sono state essiccate in stufa a 60°C ed infine pesate. Dopo questa prima fase di separazione, si è proceduto con la separazione del sedimento con granulometria > 63 μm (sabbia e ghiaia) con pile di setacci da 2000, 1000, 500, 250, 125 e 63 μm della serie ASTM; il sedimento corrispondente a ciascun intervallo è stato pesato e si è calcolata così la percentuale delle varie frazioni all'interno del campione.

2.2.2. Preparazione dell'elutriato per i saggi in fase liquida

L'elutriato è stato preparato in accordo con il protocollo standard US EPA (1991), combinando in peso quattro parti di acqua di mare filtrata sono state con una parte di sedimento; dopo agitazione per 1 h a 400 giri/min, la fase liquida è stata raccolta e centrifugata per 20 min a 1200 xg . 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 altera in modo significativo le caratteristiche dei nutrienti (NO_3 e PO_4) della fase liquida (Clementson e Wayte, 1992) e non determina differenze significative tra la tossicità di campioni di

matrici acquose appena estratte o congelate (Carr e Chapman, 1995). 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.

2.2.3. Saggio biologico con *Phaeodactylum tricornutum*

La metodica del saggio algale è stata aggiornata nella norma UNI ISO 10253 (2006) che prevede l'utilizzo di *Phaeodactylum tricornutum* Bohlin, o *Skeletonema costatum*. Entrambe le alghe possono essere impiegate utilizzando tale protocollo per saggi con elutriati, estratti da sedimento intero, con acqua sovranatante o interstiziale. Per i campioni in esame, il saggio biologico è stato eseguito con *P. tricornutum*.

Il principio del test consiste nell'esporre una coltura algale pura in fase di crescita esponenziale per diverse generazioni a concentrazioni note di campione, in condizioni fisico-chimiche standardizzate e con un definito e omogeneo apporto di nutrienti. Al termine del periodo d'incubazione viene confrontata la crescita algale nel campione con quella del controllo.

Mantenimento della coltura algale madre e fasi preparatorie

Le colture cellulari madri sono state mantenute in opportuno mezzo di crescita con periodici rinnovi per mantenerle nella fase di crescita esponenziale. A partire dalla coltura madre, una pre-coltura con una densità cellulare compresa tra 2×10^3 e 10^4 cells/ml è stata preparata 2-4 giorni prima dell'inizio del test ed incubata alle stesse condizioni previste per il test. La densità cellulare raggiunta dalla pre-coltura è stata poi valutata immediatamente prima dell'utilizzo, per la preparazione della coltura di inoculo a densità cellulare definita.

Metodologia di esecuzione del test

L'elutriato ottenuto da ciascun campione di sedimento è stato testato tal quale. Un'aliquota della coltura di inoculo è stata quindi addizionata alla soluzione test (elutriato puro) insieme ad una appropriata quantità di mezzo di coltura concentrato. La soluzione così ottenuta, con una densità cellulare compresa tra 8×10^3 e 1.2×10^4 cells/ml, è stata distribuita in triplice replica in piastre monouso sterili a 6 pozzetti e posta per 72h in camera termostatica a $20 \pm 2^\circ\text{C}$, con regime

di illuminazione continua del tipo cool white e con una intensità compresa tra 7.000 e 8.000 lux. Acqua di mare naturale filtrata, è stata considerata come controllo negativo. In contemporanea, un controllo positivo è stato effettuato utilizzando bicromato di potassio ($K_2Cr_2O_7$) come tossico di riferimento per controllare la procedura e la sensibilità del test. Al termine del prefissato periodo di incubazione è stata determinata la crescita algale di ogni replicato, attraverso letture al microscopio ottico.

2.2.4. Saggio di embriotossicità con *Crassostrea gigas*

Il test di embriotossicità è stato condotto con l'ostrica, *Crassostrea gigas*, e la matrice sottoposta alla valutazione ecotossicologica è stata l'elutriato testato tal quale (100%), preparato come già descritto precedentemente. Il metodo utilizzato è riconducibile al protocollo ICES (2013).

Reperimento degli organismi

Le ostriche (*C. gigas*) adulte sono state acquistate presso un impianto di acquacoltura (Guernsey Sea Farms) che garantisce la maturità sessuale dei bivalvi in qualsiasi periodo dell'anno. All'interno di una camera termostata, gli esemplari vengono posti in acquari di vetro contenenti acqua di mare dotati di un sistema di areazione e di filtraggio. Periodicamente vengono controllati temperatura ($16 \pm 2^\circ C$), salinità (33‰ - 36‰), pH (7,8 - 8,2), ammoniaca e nitrati. In questo modo le ostriche sono mantenute in condizioni stabili.

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 con la sospensione di uova in un rapporto spermatozoi:uova di 10:1. Il saggio di embriotossicità viene eseguito esponendo una concentrazione fissa di uova fecondate alla soluzione test in cella termostatica al buio, a $24 \pm 2^\circ C$ per 24h, al fine di garantire che tutti gli zigoti raggiungano lo stadio di larva nel controllo negativo. Oltre ai campioni e al controllo negativo, viene allestito un controllo positivo con un tossico di riferimento (nitrato di rame) per controllare la sensibilità dell'organismo test. I campioni e il controllo positivo sono allestiti in 3 repliche, il controllo negativo in 6 repliche. Dopo il tempo di esposizione previsto il test viene

fermato con fissativo di Lugol ed etanolo. La stima della percentuale di larve normali avviene contando 100 larve.

Elaborazione dei dati

L'effetto tossico del campione viene determinato dalla percentuale di embrioni malformati rispetto a un controllo di acqua di mare applicando la correzione di Abbott (ASTM, 1995). Il test viene considerato valido se la percentuale di larve normoformate nel controllo è superiore all' 80% del totale degli embrioni contati.

2.3. Applicazione dei criteri di integrazione ponderata per l'elaborazione dei dati chimici ed ecotossicologici e la valutazione della Classe di Qualità in accordo al DM 173/2016

2.3.1. Criteri di integrazione ponderata per l'elaborazione dei dati chimici e la definizione dell'indice di pericolo chimico dei sedimenti

I risultati analitici ottenuti per i sedimenti sono stati elaborati mediante il software SediQualsoft 109.0[®], applicando i criteri di integrazione ponderata che sono stati recepiti dal DM n. 173 del 15 luglio 2016 "*Regolamento recante modalità e criteri tecnici per l'autorizzazione all'immersione in mare dei materiali di escavo di fondali marini*". La successiva integrazione con i risultati ecotossicologici ha permesso di determinare la classificazione della qualità dei sedimenti mediante la procedura descritta nell'allegato tecnico del DM 173/2016.

I criteri di integrazione ponderata elaborano un indice di pericolo chimico complessivo basato sul confronto tra le concentrazioni delle sostanze misurate nei sedimenti ed i riferimenti normativi nazionali L1 e L2 (DM 173/2016), che valuta il numero dei contaminanti che eccedono tali riferimenti, la pericolosità di tali parametri, e l'entità dei superamenti misurati. Viene dunque abbandonata la logica del mero superamento del valore tabellare, anche minimo e da parte di un unico parametro, come principio fondamentale per la classificazione chimica.

Tutti i parametri chimici di cui è prevista l'analisi, hanno un "peso" (da 1 a 1.3) a seconda che non siano contemplati dalla Direttiva 2013/39/UE (peso 1), o che al contrario siano inseriti nella lista delle sostanze "prioritarie" (peso 1.1) o in quella delle sostanze "pericolose e prioritarie"

(peso 1.3). Il diverso peso assegnato ai vari composti ha lo scopo di conferire una maggiore rilevanza nella classificazione chimica dei sedimenti alla variazione di quegli inquinanti che siano caratterizzati da una più elevata tossicità, tendenza al bioaccumulo e persistenza nell'ambiente (Piva et al., 2011; Benedetti et al., 2012).

L'elaborazione dei dati chimici inizia con il confronto delle concentrazioni misurate per ciascun parametro rispetto ai valori indicati nei riferimenti normativi. In funzione del riferimento, per ciascun parametro chimico analizzato, viene calcolata la variazione rispetto al limite, ovvero il Ratio To Reference (*RTR*) (equazione 3 del flow-chart di Figura 2.1); il valore di *RTR* viene corretto in funzione del "peso" del contaminante per ottenere un valore di RTR_w (equazione 4), al fine di enfatizzare l'importanza delle variazioni osservate per i contaminanti più pericolosi. Il calcolo dell'indice di pericolo quantitativo (*Hazard Quotient*), specifico per la caratterizzazione chimica dei sedimenti (HQ_C), è ottenuto dalla media di tutti gli RTR_w dei parametri con $RTR \leq 1$ (cioè valori inferiori rispetto al limite del riferimento), addizionato con la sommatoria Σ degli RTR_w di tutti i contaminanti con $RTR > 1$ (equazione 5), dove N e M sono il numero dei parametri con RTR rispettivamente \leq o > 1 , mentre j e k sono indici che permettono di ripetere il calcolo per N o M volte (Piva et al., 2011; Benedetti et al., 2012).

L'indice chimico HQ_C è assegnato ad una classe di pericolo (da assente a molto alto), identificata da un diverso colore: Assente/bianco se $HQ_C < 0.7$; Trascurabile/verde se $0.7 \geq HQ_C < 1.3$; Basso/azzurro se $1.3 \geq HQ_C < 2.6$; Medio/giallo se $2.6 \geq HQ_C < 6.5$; Alto/rosso se $6.5 \geq HQ_C < 13$; Molto Alto/nero se $HQ_C \geq 13$ (equazione 6).

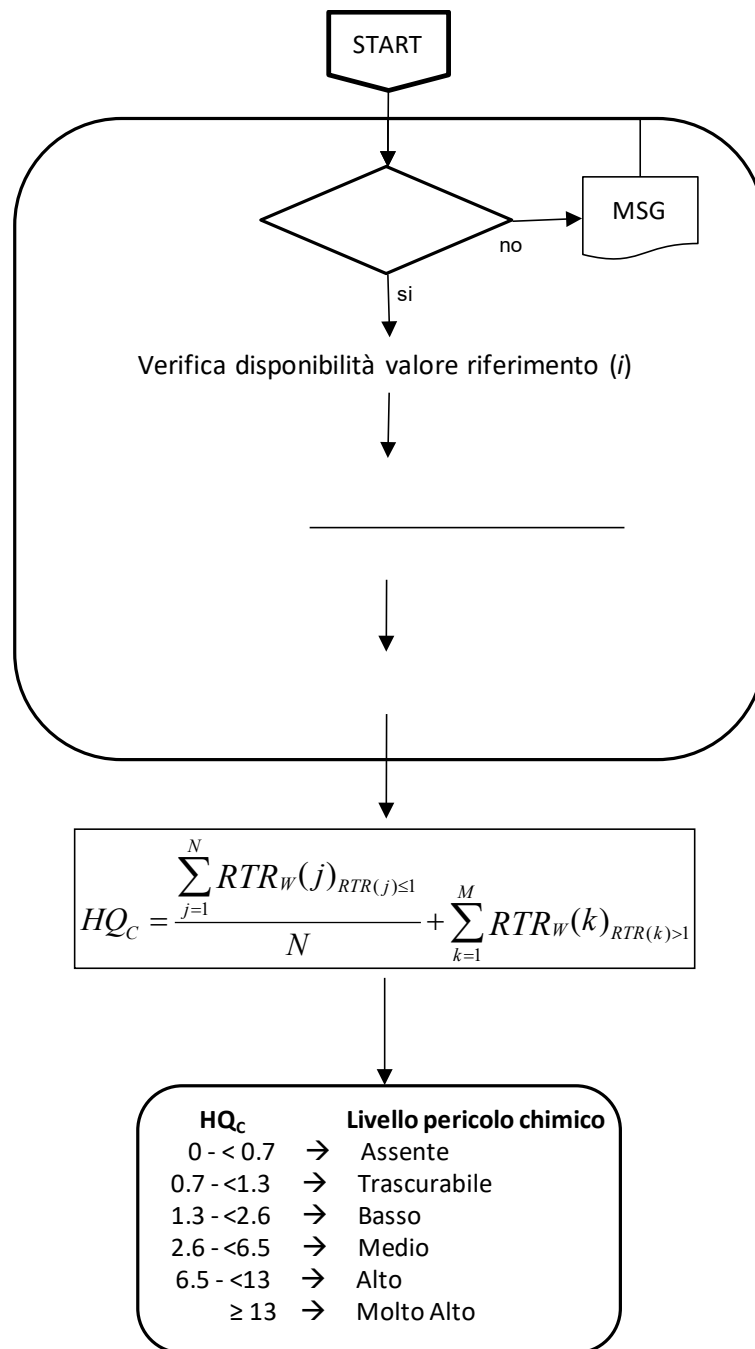


Figura 2.1 - Flow-chart con la procedura per l'elaborazione dei dati di caratterizzazione chimica dei sedimenti.

2.3.2. Criteri di integrazione ponderata per l'elaborazione dei dati ecotossicologici e la definizione dell'indice di pericolo ecotossicologico dei sedimenti

L'elaborazione dei risultati ecotossicologici dei sedimenti è stata effettuata applicando i criteri di integrazione ponderata che sono stati recepiti dal D.M. n. 173 del 15 luglio 2016 "*Regolamento recante modalità e criteri tecnici per l'autorizzazione all'immersione in mare dei materiali di escavo di fondali marini*".

Tali criteri considerano aspetti importanti e caratteristiche specifiche dei singoli saggi biologici utilizzati nella batteria, tra cui la rilevanza tossicologica della risposta biologica misurata, l'entità e la significatività statistica della differenza di effetto tra campione e controllo, la sensibilità della specie testata, la tipologia di esposizione (acuta o cronica) e la matrice testata. In questo senso, per ciascuno dei saggi previsti nelle diverse tipologie di batterie è prevista una "soglia" di effetto che rappresenta la variazione minima ritenuta biologicamente significativa per ciascuna condizione sperimentale, e dei "pesi" che vengono attribuiti a ciascun saggio in funzione della rilevanza biologica dell'end-point misurato, della durata dell'esposizione, della matrice testata (Piva et al., 2011; Benedetti et al., 2012).

Vengono di seguito descritti i passaggi e le procedure di calcolo per l'integrazione dei risultati e la formulazione del giudizio di tossicità di cui è riportato uno schema complessivo nella Figura 2.2:

- dopo la verifica dei dati, per ciascun saggio biologico viene calcolato l'effetto (E_i), inteso come variazione percentuale dell'endpoint misurato, compensato tramite la correzione di Abbott rispetto alle variazioni osservate nel controllo (equazione 2 del flow chart di Figura 2.2);
- l'effetto E_i viene corretto in base alla significatività statistica della variazione rispetto ai controlli, applicando il coefficiente Z (punto 3). Questa correzione riduce progressivamente il peso complessivo di un saggio non statisticamente significativo, ma non ne elimina completamente il contributo alla batteria;
- ciascun effetto (E_i) moltiplicato per il suo coefficiente Z , viene rapportato con la "soglia" specifica per quel saggio (equazione 4); l'effetto corretto (E_{i_w}) così ottenuto indica di

quante volte la variazione misurata in un saggio supera quella ritenuta biologicamente rilevante;

- solo per determinati saggi, quando sia possibile ottenere un eventuale effetto ormetico (come nel caso della bioluminescenza batterica o della crescita algale), viene assegnato un valore di Ei_w pari a 0 se l'effetto ormetico è < 40%, 1.25 se l'effetto ormetico è > 40% ma < 100%, pari a 1.5 se l'effetto ormetico è >100%;
- l'indice di pericolo complessivo della batteria di saggi ecotossicologici (*Hazard Quotient*, $HQ_{Batteria}$) viene calcolato come sommatoria degli effetti pesati (Ei_w) dei singoli saggi (equazione 5 del flow-chart), ulteriormente corretti secondo il fattore W_2 che corrisponde al prodotto dei pesi assegnati in funzione della rilevanza biologica dell'endpoint considerato, della rilevanza ecologica della matrice testata, dell'esposizione acuta o cronica degli organismi.
- Per l'attribuzione del livello di pericolo derivante dalla batteria di saggi ecotossicologici, il valore ottenuto per l'indice $HQ_{Batteria}$ è normalizzato ad una scala compresa tra 0 e 10 (equazione 6), dove 1 corrisponde al valore di soglia della batteria (cioè il valore di HQ che si otterrebbe se tutti i saggi della batteria mostrassero un effetto pari alla rispettiva soglia) e 10 corrisponde al valore massimo della batteria (quando tutti i saggi mostrano il 100% di effetto). A seconda del valore dell' $HQ_{Batteria}$ normalizzato, il livello di pericolo ecotossicologico viene attribuito ad una classe di gravità (da assente a molto alto), identificata da un diverso colore: Assente/bianco se $HQ_{Batteria} < 1$; Basso/azzurro se $HQ_{Batteria} \geq 1$ e < 1.5; Medio/giallo se $HQ_{Batteria} \geq 1.5$ e < 3; Alto/rosso se $HQ_{Batteria} \geq 3$ e < 6; Molto Alto/nero se $HQ_{Batteria} \geq 6$ (punto 6 del flow chart della Figura 2.2).

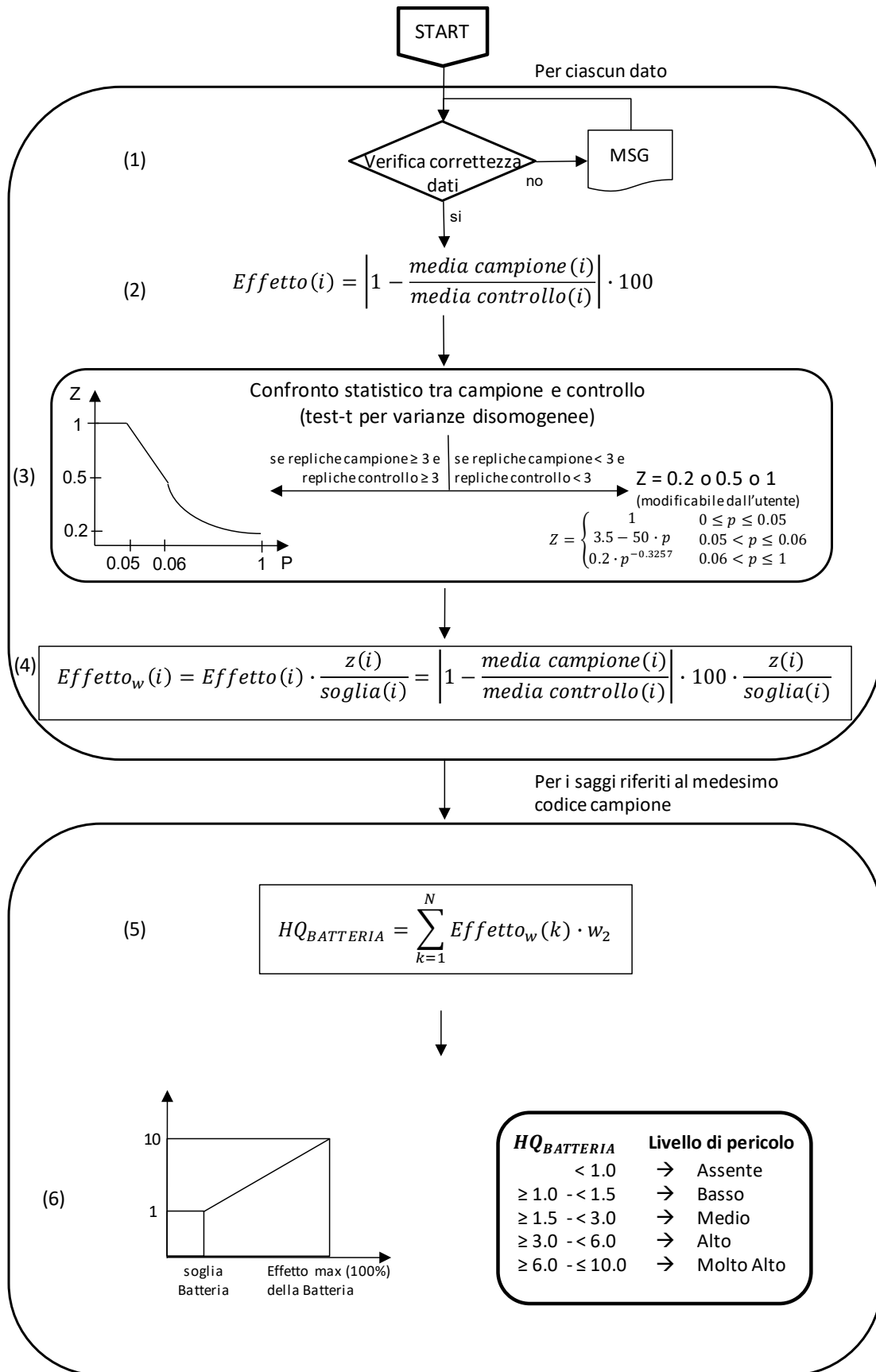


Figura 2.2 – Flow-chart con la procedura per l’elaborazione dei dati di caratterizzazione ecotossicologica.

2.3.3. Classificazione ponderata di qualità dei sedimenti

L'attribuzione della Classe di Qualità dei sedimenti è data dall'integrazione della classificazione chimica ed ecotossicologica ottenute attraverso l'applicazione dei criteri di integrazione ponderata descritti in precedenza. La classificazione ponderata (Tabella 2.2), che determina le successive opzioni di gestione, è stata determinata in accordo alla procedura descritta nell'Allegato tecnico del DM 173 del 2016.

Tabella 2.2 - Classificazione della Qualità dei sedimenti secondo i criteri di integrazione ponderata; HQ_C = Hazard Quotient (chimico)

Classe di pericolo ecotossicologico	Classificazione chimica	Classe di Qualità del materiale
Assente	$HQ_C (L2) \leq$ Trascurabile	A
	Basso $\leq HQ_C (L2) \leq$ Medio	B
	$HQ_C (L2) =$ Alto	C
	$HQ_C (L2) >$ Alto	D
Basso	$HQ_C (L1) \leq$ Basso	A
	$HQ_C (L1) \geq$ Medio e $HQ_C (L2) \leq$ Basso	B
	Medio $\leq HQ_C (L2) \leq$ Alto	C
	$HQ_C (L2) >$ Alto	D
Medio	$HQ_C (L2) \leq$ Basso	C
	$HQ_C (L2) \geq$ Medio	D
\geq Alto	$HQ_C (L2) \leq$ Basso	D
	$HQ_C (L2) \geq$ Medio	E

3. Risultati e Discussione

3.1. *Analisi dei parametri fisici e chimici dei sedimenti*

3.1.1. *Contenuto d'acqua, sostanza organica totale, peso specifico, azoto totale, fosforo totale e granulometria*

I risultati relativi al contenuto d'acqua, sostanza organica totale, peso specifico, azoto totale e fosforo totale nei sedimenti sono riportati in Tabella 3.1a. Il valore medio della percentuale del contenuto d'acqua dei sedimenti risulta pari a circa 30%. Per quanto riguarda il contenuto di sostanza organica totale, il valore medio si attesta al 5.0%, variando da un minimo di 1.3% per il campione A68 dell'area potenzialmente impattata dalle operazioni di immersione ad un massimo di 25.5% per il campione A24 dell'area di immersione.

Il peso specifico dei campioni esaminati, è risultato compreso tra 1.6 g/cm³ (A22) e 3.4 g/cm³ (A72).

In generale, si evidenzia una minima variabilità dei parametri fisici tra i campioni delle tre aree con valori che risultano molto simili rispetto a quelli delle campagne precedenti.

Il contenuto di azoto totale oscilla tra circa 0.8 e 1.1 mg/g (ps) nei sedimenti dell'area di immersione, tra 0.7 e 1.0 mg/g (ps) in quelli delle aree potenzialmente impattate dalle operazioni di dragaggio e tra 0.7 e 1.4 mg/g (ps) nei sedimenti provenienti dall'area potenzialmente impattata dalle operazioni di immersione (Tabella 3.1a).

Per quanto concerne il fosforo totale (P), questo parametro non ha mai mostrato livelli misurabili nei sedimenti analizzati con concentrazioni sempre < 0.002 mg/g (peso calcinato).

Tabella 3.1a - Contenuto d'acqua, contenuto di sostanza organica totale espressi in percentuale, peso specifico (g/cm^3), azoto totale e fosforo totale (mg/g). Campagna febbraio 2023.

Area	Codice campione	Contenuto d'acqua %	Sostanza organica %	Peso specifico g/cm^3	N tot mg/g	P tot mg/g
Area di immersione	A20	37.36	7.54	1.66	1.03	< 0.002
	A21	39.03	6.80	1.85	1.04	< 0.002
	A22	41.68	7.27	1.55	0.97	< 0.002
	A23	32.04	4.48	2.11	0.86	< 0.002
	A24	43.98	25.51	1.92	1.00	< 0.002
	A74	37.64	5.05	2.24	0.84	< 0.002
	A75	40.56	4.69	1.75	0.76	< 0.002
Aree potenzialmente impattate dalle operazioni di dragaggio	A76	40.19	4.16	1.82	1.10	< 0.002
	A08	19.28	2.15	2.68	0.81	< 0.002
	A11	22.96	3.70	2.21	0.85	< 0.002
	A14	22.76	3.69	2.34	0.72	< 0.002
	A17	20.71	1.82	3.01	0.86	< 0.002
Aree potenzialmente impattate dalle operazioni di immersione	A72	23.98	1.38	3.43	1.00	< 0.002
	A47	34.28	4.38	1.82	0.73	< 0.002
	A50	37.15	6.68	1.89	0.84	< 0.002
	A53	23.04	2.45	2.74	0.99	< 0.002
	A59	22.09	2.31	2.42	0.89	< 0.002
	A62	24.74	2.65	2.60	1.02	< 0.002
	A65	24.27	1.81	2.67	0.88	< 0.002
A68	22.13	1.25	2.82	1.41	< 0.002	

Nella Tabella 3.1b vengono riportate le caratteristiche granulometriche dei sedimenti secondo quanto indicato dal DM 173/2016. La pelite è la frazione granulometrica prevalente con una media superiore al 95% in tutti i campioni di sedimento prelevati nell'area di immersione (Tabella 3.1b).

Nei campioni delle aree potenzialmente impattate dalle operazioni di dragaggio la sabbia è generalmente la frazione dominante (generalmente compresa tra >60 e 95%) con alcune eccezioni in cui prevale la pelite (Tabella 3.1b).

La sabbia predomina nei campioni potenzialmente impattati dalle operazioni di immersione (Figura 3.1b).

Tabella 3.1b Risultati delle analisi granulometriche. Campagna febbraio 2023. In neretto è evidenziata la frazione granulometrica prevalente.

AREA POTENZIALMENTE IMPATTATA DALLE OPERAZIONI DI DRAGAGGIO									
	Unità di misura	A08	A11	A14	A17	A72			
Ghiaia	%	31.7	9.8	0.0	0.9	0.0			
Sabbia	%	67.9	25.3	95.2	95.2	48.2			
Pelite	%	0.5	64.9	4.8	3.9	51.8			
AREA DI IMMERSIONE									
	Unità di misura	A20	A21	A22	A23	A24	A74	A75	A76
Ghiaia	%	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Sabbia	%	6.0	12.6	0.7	0.9	0.0	0.4	1.1	4.3
Pelite	%	94.0	87.4	99.3	99.1	100.0	99.6	98.9	95.7
AREA POTENZIALMENTE IMPATTATA DALLE OPERAZIONI DI IMMERSIONE									
	Unità di misura	A47	A50	A53	A59	A62	A65	A68	
Ghiaia	%	0.0	23.3	0.5	0.0	1.0	0.0	0.0	
Sabbia	%	19.7	42.7	85.9	88.7	52.8	60.5	61.8	
Pelite	%	80.3	34.0	13.6	11.3	46.2	39.5	38.2	

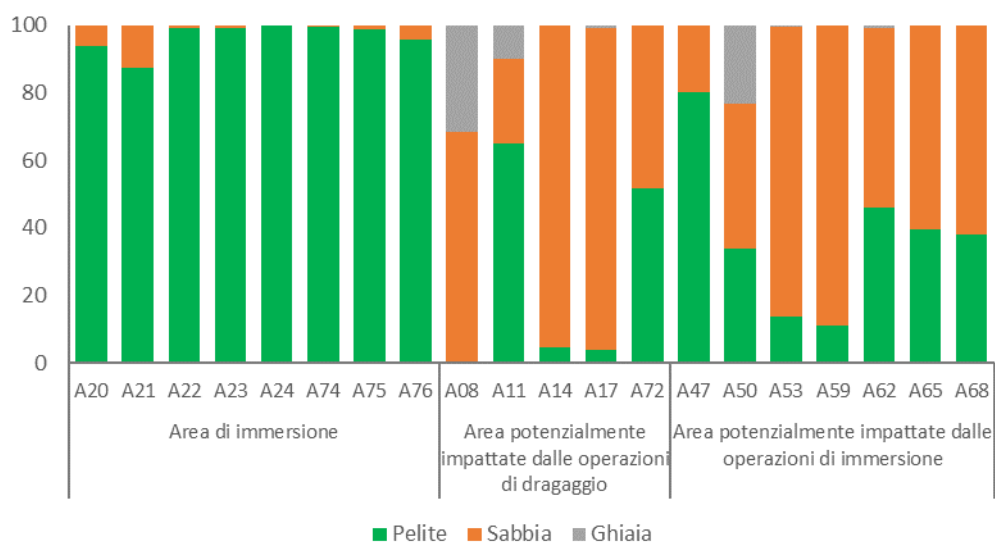


Figura 3.1 Risultati delle analisi granulometriche. Campagna febbraio 2023.

3.1.2. Analisi chimiche di metalli in traccia, idrocarburi policiclici aromatici, idrocarburi alifatici e contaminanti organici persistenti

Nella Tabella 3.2 vengono riportati tutti i risultati relativi alla caratterizzazione chimica dei sedimenti in oggetto. Per quanto riguarda gli elementi in traccia, salvo sporadiche eccezioni, i valori sono sempre risultati bassi e tali da non destare particolare attenzione. A conferma di ciò, solamente l'arsenico mostra occasionalmente alcuni valori al di sopra del limite L1 definito dal DM 173/2016, pertanto superiori a 12 $\mu\text{g/g}$ (p.s.) ed in un solo caso, specificatamente relativo al campione A47, si osserva un valore pari a circa 22 $\mu\text{g/g}$ (p.s.) che supera di poco il limite L2 della normativa. Vale la pena specificare che il limite L1 equivale ad uno standard di qualità ambientale (SQA), ovvero un valore in grado di definire una buona qualità ambientale al quale tendere in aree non soggette a contaminazione ambientale; pertanto, non si tratta di un valore critico o di attenzione. Per quanto riguarda il campione A47 che supera il limite L2, va detto che la concentrazione misurata non appare preoccupante ed il fatto che si manifesti in un singolo campione lascia ipotizzare una situazione del tutto puntiforme e probabilmente temporanea.

Anche i composti organici dello stagno mostrano valori sempre bassi e solamente in alcuni casi il TBT ha evidenziato concentrazioni leggermente più elevate del limite L1 (DM 173/2016), che come già spiegato equivale ad un livello di SQA, pertanto tali da non da suscitare particolare attenzione.

La sostanziale assenza di criticità chimiche è confermata anche dai risultati relativi ai composti organici che hanno mostrato sempre concentrazioni molto basse. I livelli degli idrocarburi alifatici totali sono sempre inferiori a 8.5 $\mu\text{g/g}$ (p.s.), pertanto molto distanti dai limiti normativi vigenti (L2=50 $\mu\text{g/g}$ p.s., DM 173/2016), ed anche gli idrocarburi policiclici aromatici hanno mostrato concentrazioni molto basse, con sommatorie totali che non superano mai 120 ng/g (p.s.). Tutti i composti alogenati, i pesticidi e i ritardanti di fiamma non hanno mai mostrato segnali apprezzabili, risultando costantemente al di sotto dei LOD delle metodiche analitiche.

Monitoraggio Post-Operam 24 mesi – Risultati Sedimenti

Tabella 3.2. Concentrazioni di metalli pesanti, composti organostannici, idrocarburi alifatici, idrocarburi policiclici aromatici (IPA) e concentrazioni di composti organici persistenti, che includono pesticidi organoclorurati, pesticidi organofosfati, clorofenoli, clorobifenili, policlorobifenili, polibromo-difenil eteri, altri ritardanti di fiamma organo brominati. In evidenza i dati che risultano maggiori dei livelli L1 (in arancione) e L2 (in rosso), secondo la normativa vigente (DM 173/2016). Sedimenti relativi alla campagna febbraio 2023.

Parametri	ST A08	ST A11	ST A14	ST A17	ST A20	ST A21	ST A22	ST A23	ST A24	ST A47	ST A50	ST A53	ST A59	ST A62	ST A65	ST A68	ST A72	ST A74	ST A75	ST A76	
<i>Elementi in traccia µg/g (ps)</i>																					
Al	1745	4598	1190	887	5035	4834	2610	18756	4185	8960	16247	2147	1099	2781	2290	1803	2389	7633	7126	11052	
As	6,08	10,61	9,19	9,76	8,79	11,87	19,79	10,58	16,61	21,59	9,97	8,36	9,14	13,29	8,30	9,69	10,81	11,30	15,83	12,65	
Cd	0,0305	0,0546	0,0544	0,0569	0,0862	0,0819	0,0792	0,1410	0,0770	0,0922	0,0927	0,0472	0,0786	0,0743	0,0752	0,0766	0,0460	0,0852	0,0816	0,0909	
Cr	4,88	15,82	7,79	10,16	32,76	39,41	39,21	39,29	30,20	19,63	18,70	2,71	8,74	13,40	11,73	11,32	6,46	25,86	26,15	35,00	
Cu	3,92	15,93	2,91	2,51	32,41	36,16	32,75	35,87	31,39	21,74	26,62	8,90	6,09	10,92	10,30	7,63	4,74	28,79	29,26	32,05	
Fe	5226	15680	10877	9916	31918	34013	35161	34833	33596	25383	19552	8921	13483	28724	19085	16917	12760	34964	38252	33773	
Hg	0,0051	0,0221	0,0057	0,0028	0,0312	0,0268	0,0170	0,0210	0,0222	0,0207	< 0,001	< 0,001	< 0,001	0,0055	0,0014	< 0,001	< 0,001	0,0261	0,0153	0,0233	
Mn	107,0	268,3	340,2	412,9	650,9	936,5	1404,3	859,6	3750,2	376,9	485,1	240,7	590,1	736,5	798,4	1037,5	352,0	632,1	764,4	644,8	
Ni	6,74	9,38	5,02	5,92	20,94	25,50	29,74	27,96	25,00	17,24	15,29	6,21	8,00	14,13	12,86	14,62	5,69	18,37	22,30	26,25	
Pb	5,70	17,61	6,67	4,00	19,61	26,30	28,00	16,96	27,38	29,16	27,10	10,65	4,88	9,70	8,30	5,42	7,85	26,76	29,43	26,03	
V	25,14	39,78	5,94	2,42	45,46	52,52	61,76	45,99	43,72	57,14	46,58	6,23	11,77	15,22	7,70	3,49	10,26	48,36	41,96	51,42	
Zn	9,82	20,08	9,66	7,07	60,59	72,57	81,84	68,01	77,91	51,40	54,97	12,66	10,70	31,94	17,78	20,06	8,23	73,04	68,67	70,75	
<i>Stagno ed organostannici µg/g (ps)</i>																					
OSn	0,0361	0,0272	0,0268	0,0194	0,0186	0,0291	0,0354	0,0450	0,0252	0,0266	0,0113	0,0389	0,0225	0,0160	0,0453	0,0485	0,0478	0,0154	0,0447	0,0458	
TBT	0,0090	0,0048	0,0034	0,0026	0,0027	0,0039	0,0045	0,0060	0,0031	0,0086	0,0049	0,0039	0,0033	0,0110	0,0054	0,0062	0,0059	0,0021	0,0051	0,0039	
<i>Idrocarburi alifatici µg/g (ps)</i>																					
C9	< 0,037	< 0,031	< 0,029	< 0,021	< 0,023	< 0,033	< 0,036	< 0,051	< 0,027	< 0,056	< 0,046	< 0,034	< 0,029	< 0,069	< 0,046	< 0,046	< 0,042	< 0,015	< 0,039	< 0,038	
C10	< 0,037	< 0,031	< 0,029	< 0,021	< 0,023	< 0,033	< 0,036	< 0,051	< 0,027	< 0,056	< 0,046	< 0,034	< 0,029	< 0,069	< 0,046	< 0,046	< 0,042	< 0,015	< 0,039	< 0,038	
C11	< 0,037	< 0,031	< 0,029	< 0,021	< 0,023	< 0,033	< 0,036	< 0,051	< 0,027	< 0,056	< 0,046	< 0,034	< 0,029	< 0,069	< 0,046	< 0,046	< 0,042	< 0,015	< 0,039	< 0,038	
C12	< 0,037	0,085	< 0,029	< 0,021	< 0,023	< 0,033	< 0,036	< 0,051	< 0,027	0,372	< 0,046	< 0,034	< 0,029	0,114	< 0,046	< 0,046	< 0,042	< 0,015	0,060	< 0,038	
C13	0,128	0,048	< 0,029	0,056	0,046	< 0,033	0,172	0,156	< 0,027	< 0,056	< 0,046	0,598	0,089	0,077	0,165	< 0,046	0,240	0,071	0,109	0,039	
C14	< 0,037	< 0,031	< 0,029	< 0,021	< 0,023	< 0,033	0,105	< 0,051	< 0,027	< 0,056	< 0,046	< 0,034	< 0,029	< 0,069	< 0,046	< 0,046	< 0,042	< 0,015	< 0,039	< 0,038	
C15	< 0,037	< 0,031	< 0,029	0,198	0,038	< 0,033	< 0,036	< 0,051	< 0,027	< 0,056	< 0,046	< 0,034	0,045	< 0,069	< 0,046	< 0,046	< 0,042	0,061	0,092	< 0,038	
C16	< 0,037	< 0,031	< 0,029	< 0,021	< 0,023	< 0,033	< 0,036	< 0,051	< 0,027	< 0,056	< 0,046	< 0,034	< 0,029	< 0,069	< 0,046	0,064	< 0,042	< 0,015	0,105	< 0,038	
C17	< 0,037	< 0,031	< 0,029	< 0,021	< 0,023	< 0,033	< 0,036	< 0,051	< 0,027	< 0,056	< 0,046	< 0,034	< 0,029	< 0,069	< 0,046	< 0,046	< 0,042	< 0,015	< 0,039	< 0,038	

Monitoraggio Post-Operam 24 mesi – Risultati Sedimenti

Parametri	ST A08	ST A11	ST A14	ST A17	ST A20	ST A21	ST A22	ST A23	ST A24	ST A47	ST A50	ST A53	ST A59	ST A62	ST A65	ST A68	ST A72	ST A74	ST A75	ST A76
C18	0,531	1,476	0,129	< 0,021	0,030	0,080	0,083	0,239	0,105	0,463	1,163	< 0,034	< 0,029	0,564	0,160	0,119	0,317	0,100	0,278	0,058
C19	< 0,037	< 0,031	< 0,029	< 0,021	0,047	< 0,033	< 0,036	0,100	< 0,027	< 0,056	0,106	0,089	0,194	< 0,069	0,079	< 0,046	< 0,042	< 0,015	0,308	< 0,038
C20	0,744	2,163	2,000	0,833	0,237	0,703	0,769	0,230	0,086	5,774	2,201	0,498	0,080	7,365	1,447	0,432	1,754	1,338	2,314	0,149
C21	0,701	1,267	0,063	1,235	1,184	0,529	1,079	0,923	0,172	1,864	0,860	2,191	1,161	2,251	0,850	2,221	2,539	0,905	3,092	0,644
C22	< 0,037	< 0,031	< 0,029	< 0,021	< 0,023	< 0,033	< 0,036	< 0,051	< 0,027	< 0,056	< 0,046	< 0,034	< 0,029	< 0,069	< 0,046	< 0,046	< 0,042	< 0,015	< 0,039	< 0,038
C23	< 0,037	< 0,031	< 0,029	< 0,021	< 0,023	< 0,033	< 0,036	< 0,051	< 0,027	< 0,056	< 0,046	< 0,034	< 0,029	< 0,069	< 0,046	< 0,046	< 0,042	< 0,015	< 0,039	< 0,038
C24	< 0,037	< 0,031	< 0,029	< 0,021	< 0,023	< 0,033	< 0,036	< 0,051	< 0,027	< 0,056	< 0,046	< 0,034	< 0,029	< 0,069	< 0,046	< 0,046	< 0,042	< 0,015	< 0,039	< 0,038
C25	< 0,037	< 0,031	< 0,029	< 0,021	< 0,023	< 0,033	< 0,036	< 0,051	< 0,027	< 0,056	< 0,046	< 0,034	< 0,029	< 0,069	< 0,046	< 0,046	0,126	< 0,015	< 0,039	< 0,038
C26	< 0,037	< 0,031	< 0,029	< 0,021	< 0,023	< 0,033	0,075	< 0,051	< 0,027	< 0,056	< 0,046	< 0,034	< 0,029	< 0,069	< 0,046	< 0,046	< 0,042	< 0,015	0,145	< 0,038
C27	< 0,037	< 0,031	< 0,029	< 0,021	< 0,023	< 0,033	< 0,036	< 0,051	< 0,027	< 0,056	< 0,046	< 0,034	< 0,029	< 0,069	< 0,046	< 0,046	< 0,042	< 0,015	< 0,039	< 0,038
C28	< 0,037	< 0,031	< 0,029	< 0,021	< 0,023	< 0,033	< 0,036	< 0,051	< 0,027	< 0,056	< 0,046	< 0,034	< 0,029	< 0,069	< 0,046	< 0,046	< 0,042	< 0,015	< 0,039	< 0,038
C29	< 0,037	< 0,031	< 0,029	< 0,021	< 0,023	< 0,033	< 0,036	< 0,051	< 0,027	< 0,056	< 0,046	< 0,034	< 0,029	< 0,069	< 0,046	< 0,046	< 0,042	< 0,015	< 0,039	< 0,038
C30	< 0,037	< 0,031	< 0,029	< 0,021	< 0,023	< 0,033	< 0,036	< 0,051	< 0,027	< 0,056	< 0,046	< 0,034	< 0,029	< 0,069	< 0,046	< 0,046	< 0,042	< 0,015	< 0,039	< 0,038
C31	< 0,037	< 0,031	< 0,029	< 0,021	< 0,023	< 0,033	< 0,036	< 0,051	< 0,027	< 0,056	< 0,046	< 0,034	< 0,029	< 0,069	< 0,046	< 0,046	< 0,042	< 0,015	< 0,039	< 0,038
C32	< 0,037	< 0,031	< 0,029	< 0,021	< 0,023	< 0,033	< 0,036	< 0,051	< 0,027	< 0,056	< 0,046	< 0,034	< 0,029	< 0,069	< 0,046	< 0,046	< 0,042	< 0,015	< 0,039	< 0,038
C33	< 0,037	< 0,031	< 0,029	< 0,021	< 0,023	< 0,033	< 0,036	< 0,051	< 0,027	< 0,056	< 0,046	< 0,034	< 0,029	< 0,069	< 0,046	< 0,046	< 0,042	< 0,015	< 0,039	< 0,038
C34	< 0,037	< 0,031	< 0,029	< 0,021	< 0,023	< 0,033	< 0,036	< 0,051	< 0,027	< 0,056	< 0,046	< 0,034	< 0,029	< 0,069	< 0,046	< 0,046	< 0,042	< 0,015	< 0,039	< 0,038
C35	< 0,037	< 0,031	< 0,029	< 0,021	< 0,023	< 0,033	< 0,036	< 0,051	< 0,027	< 0,056	< 0,046	< 0,034	< 0,029	< 0,069	< 0,046	< 0,046	< 0,042	< 0,015	< 0,039	< 0,038
C36	< 0,037	< 0,031	< 0,029	< 0,021	< 0,023	< 0,033	< 0,036	< 0,051	< 0,027	< 0,056	< 0,046	< 0,034	< 0,029	< 0,069	< 0,046	< 0,046	< 0,042	< 0,015	< 0,039	< 0,038
C37	< 0,037	< 0,031	< 0,029	< 0,021	< 0,023	< 0,033	< 0,036	< 0,051	< 0,027	< 0,056	< 0,046	< 0,034	< 0,029	< 0,069	< 0,046	< 0,046	< 0,042	< 0,015	< 0,039	< 0,038
C38	< 0,037	< 0,031	< 0,029	< 0,021	< 0,023	< 0,033	< 0,036	< 0,051	< 0,027	< 0,056	< 0,046	< 0,034	< 0,029	< 0,069	< 0,046	< 0,046	< 0,042	< 0,015	< 0,039	< 0,038
C39	< 0,037	< 0,031	< 0,029	< 0,021	< 0,023	< 0,033	< 0,036	< 0,051	< 0,027	< 0,056	< 0,046	< 0,034	< 0,029	< 0,069	< 0,046	< 0,046	< 0,042	< 0,015	< 0,039	< 0,038
C40	< 0,037	< 0,031	< 0,029	< 0,021	< 0,023	< 0,033	< 0,036	< 0,051	< 0,027	< 0,056	< 0,046	< 0,034	< 0,029	< 0,069	< 0,046	< 0,046	< 0,042	< 0,015	< 0,039	< 0,038
Alifatici tot (C10-C40)	2,10	5,04	2,19	2,32	1,58	1,31	2,28	1,65	0,36	8,47	4,33	3,38	1,57	10,37	2,70	2,84	4,98	2,47	6,50	0,89
<i>Idrocarburi poliaromatici ng/g (ps)</i>																				
Naftalene	5,61	3,27	7,86	6,11	7,80	8,10	13,76	10,64	12,35	9,29	22,35	5,74	9,56	8,93	10,18	9,82	5,20	5,82	9,68	10,37
Acenaftilene	11,17	< 0,05	10,86	5,64	12,09	< 0,05	16,76	5,63	10,27	6,56	8,99	8,65	11,03	6,74	7,84	4,24	3,20	5,04	6,77	11,65
1-Metilnaftalene	40,97	24,91	39,24	52,25	12,19	50,42	90,11	20,16	22,16	11,98	69,89	10,52	6,80	48,84	55,41	61,96	10,22	7,25	14,58	70,00
2-Metilnaftalene	5,23	2,83	6,13	5,73	5,80	5,90	10,61	7,90	10,43	6,33	12,45	4,47	5,27	7,71	7,49	7,35	4,46	4,29	7,40	8,81
Acenaftene	1,18	0,35	0,18	0,94	0,54	0,55	1,27	0,67	1,20	0,51	< 0,01	0,43	0,55	0,55	0,79	0,61	0,54	0,39	0,80	0,99
Fluorene	< 0,01	0,24	0,43	< 0,01	0,60	0,46	1,11	0,64	1,13	0,53	0,80	0,40	0,47	0,62	0,61	0,55	0,41	0,41	0,74	0,99

Monitoraggio Post-Operam 24 mesi – Risultati Sedimenti



Parametri	ST A08	ST A11	ST A14	ST A17	ST A20	ST A21	ST A22	ST A23	ST A24	ST A47	ST A50	ST A53	ST A59	ST A62	ST A65	ST A68	ST A72	ST A74	ST A75	ST A76
Fenantrene	3,18	1,21	2,08	2,35	3,08	2,46	5,63	3,00	5,68	2,67	3,11	1,77	2,65	3,10	2,96	2,61	2,15	2,16	4,15	5,35
Antracene	0,012	< 0,01	0,026	< 0,01	0,014	< 0,01	0,021	0,027	0,012	0,012	0,032	< 0,01	< 0,01	0,024	0,023	0,042	< 0,01	0,024	0,015	0,052
Fluorantene	0,415	0,112	0,444	0,049	0,067	1,336	< 0,01	0,172	0,145	0,473	1,031	0,181	0,175	0,644	0,564	0,901	0,227	0,678	0,467	< 0,01
Pirene	0,071	0,021	0,082	< 0,01	0,041	0,088	0,153	0,130	0,096	0,061	0,247	0,038	0,041	0,253	0,122	0,056	0,070	0,106	0,115	< 0,01
Benzo(a)antracene	< 0,01	< 0,01	0,056	0,024	< 0,01	< 0,01	0,034	0,098	< 0,01	0,023	0,093	0,026	< 0,01	0,056	< 0,01	< 0,01	0,011	0,053	< 0,01	0,168
Crisene	0,011	< 0,01	0,048	0,425	< 0,01	0,011	0,026	0,048	0,025	< 0,01	0,073	0,016	< 0,01	< 0,01	< 0,01	0,017	< 0,01	0,021	0,019	< 0,01
7,12-Dimetilbenzo(a)antracene	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05
Benzo(b)fluorantene	0,056	0,018	0,111	0,047	0,017	0,045	0,071	0,125	0,066	< 0,001	0,135	0,042	0,035	0,096	0,026	0,052	0,011	0,060	0,045	0,102
Benzo(k)fluorantene	0,057	0,010	0,060	0,040	0,004	0,022	0,009	0,021	0,028	0,026	0,081	0,019	0,016	0,039	0,011	0,026	0,005	0,034	0,013	0,043
Benzo(a)pirene	0,049	0,009	0,049	0,061	0,013	0,021	0,031	0,033	0,031	0,025	0,046	0,022	0,018	0,019	0,021	0,018	0,013	0,017	0,017	< 0,001
Dibenzo(ah)antracene	0,080	< 0,001	0,044	0,092	0,056	0,062	0,099	0,087	0,123	0,065	< 0,001	0,082	< 0,001	0,057	< 0,001	< 0,001	0,063	< 0,001	0,080	0,187
Benzo(ghi)perilene	< 0,001	< 0,001	0,063	< 0,001	0,033	0,040	0,057	0,052	0,063	0,035	0,086	< 0,001	0,036	0,070	0,051	0,055	0,029	0,056	0,040	< 0,001
Indeno(123cd)pirene	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05
IPA basso PM	67,35	32,81	66,81	73,02	42,12	67,90	139,27	48,67	63,25	37,89	117,62	31,98	36,34	76,52	85,30	87,18	26,16	25,38	44,12	108,22
IPA alto PM	0,74	0,17	0,96	0,74	0,23	1,62	0,48	0,77	0,58	0,71	1,79	0,43	0,32	1,23	0,79	1,12	0,43	1,03	0,80	0,50
IPA tot	68,08	32,98	67,76	73,76	42,35	69,53	139,75	49,44	63,83	38,60	119,41	32,41	36,66	77,75	86,10	88,31	26,59	26,41	44,91	108,72
<i>Pesticidi clorurati ng/g (ps)</i>																				
Aldrin	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1
Endrin	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1
Endrin ald	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1
Endrin ket	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1
Dieldrin	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1
p.p'-DDT	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1
<i>Policlorobifenili ng/g (ps)</i>																				
PCB4	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1
PCB7	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1
PCB8	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1
PCB11	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1
PCB13	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1
PCB15	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1

Monitoraggio Post-Operam 24 mesi – Risultati Sedimenti

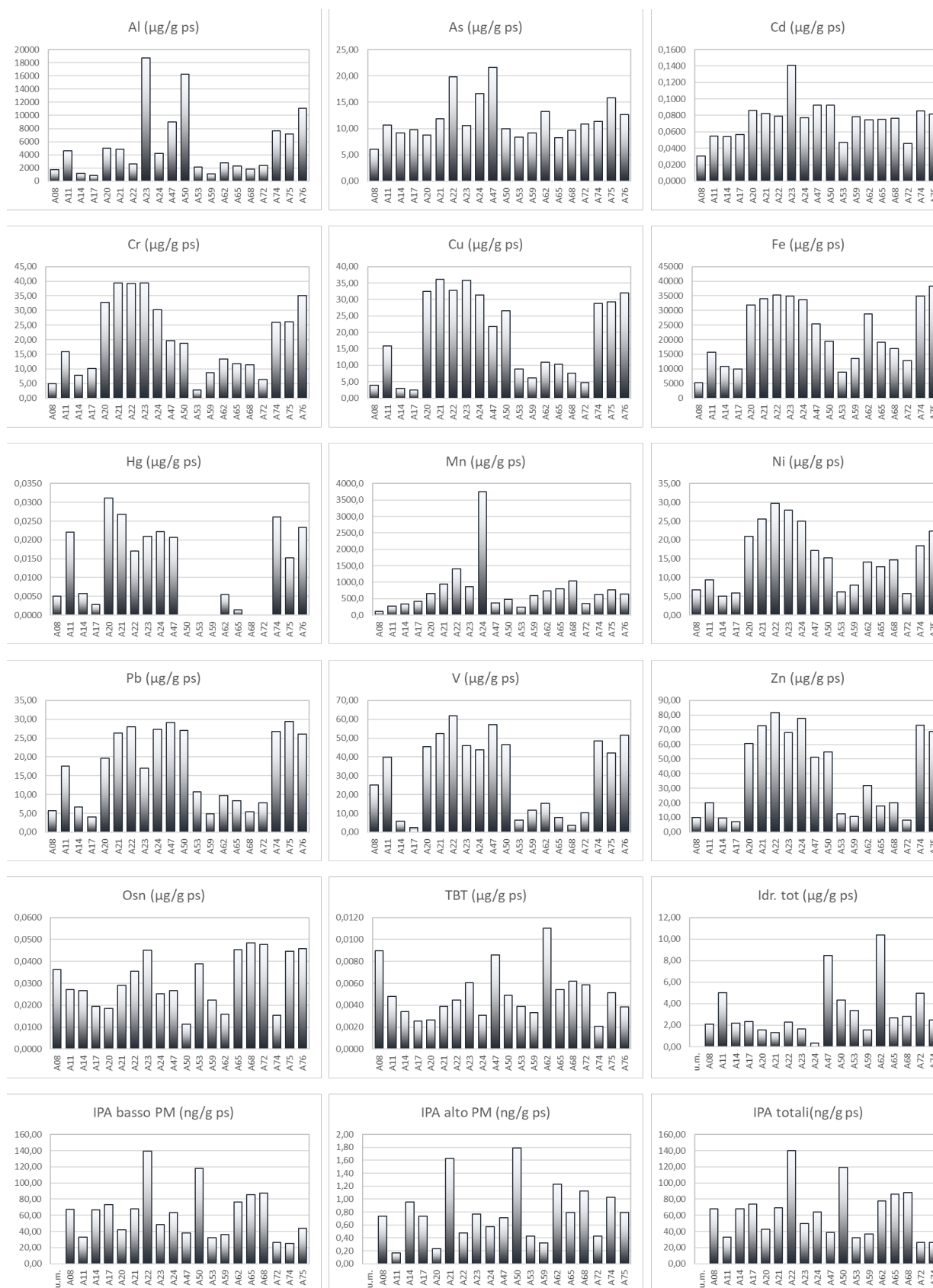


Figura 3.2 - Concentrazioni di metalli pesanti, composti organostannici, idrocarburi alifatici, idrocarburi policiclici aromatici (IPA) e concentrazioni di composti organici persistenti nei sedimenti. Campagna febbraio 2023.

3.1.3. Classificazione del pericolo chimico dei sedimenti

I risultati chimici sono stati elaborati utilizzando il tool SediquaSoft 109.0® che, nei confronti dei riferimenti normativi nazionali (L1 e L2), elabora un indice di pericolo chimico basato sul numero dei contaminanti che eccedono il riferimento specifico, la pericolosità di tali parametri, e l'entità degli sforamenti misurati. Questi criteri di integrazione ponderata, recepiti all'interno del DM 173/2016, abbandonano la logica del mero superamento del valore tabellare, anche minimo e da parte di un unico parametro, come principio per la classificazione chimica della qualità dei sedimenti.

Come riportato nella Tabella 3.3, l'elaborazione ha fornito una classe di pericolo chimico da Assente a Basso nei confronti di L1 (DM 173/2016) per tutti i campioni di sedimento prelevati durante la campagna di febbraio 2023, con l'eccezione dei campioni A75, A72 e A59 che presentano un livello di pericolo Medio. Il composto che ha fornito il contributo percentualmente superiore all'indice di pericolo chimico nei confronti di L1 è stato il TBT.

Per quanto riguarda il livello di riferimento L2 (DM 173/2016), il livello di pericolo elaborato è risultato Assente in tutti i campioni, e Trascurabile solo in A72 con l'unico contributo dell'As.

Tabella 3.7 – Classificazione del pericolo chimico dei sedimenti mediante integrazione ponderata dei dati, i valori limite L1 e L2 (DM 173/2016). Campagna febbraio 2023.

utilizzando come riferimenti

Area	Codice campione	L1				L2			
		HQ	% max/HQ	Par non conf.	Livello Pericolo	HQ	% max/HQ	Par non conf.	Livello Pericolo
Area di immersione	A20	0.16		0	ASSENTE	0.1		0	ASSENTE
	A21	0.2		0	ASSENTE	0.12		0	ASSENTE
	A22	1.84	100 - As	1	BASSO	0.14		0	ASSENTE
	A23	1.74	100 - TBT	1	BASSO	0.13		0	ASSENTE
	A24	1.55	100 - As	1	BASSO	0.12		0	ASSENTE
	A74	0.16		0	ASSENTE	0.1		0	ASSENTE
	A75	2.79	50.3 - TBT	2	MEDIO	0.13		0	ASSENTE
	A76	1.23	100 - As	1	TRASCURABILE	0.13		0	ASSENTE
Aree potenzialmente impattate dalle operazioni di dragaggio	A08	2.38	100 - TBT	1	BASSO	0.05		0	ASSENTE
	A11	0.12		0	ASSENTE	0.07		0	ASSENTE
	A14	0.08		0	ASSENTE	0.05		0	ASSENTE
	A17	0.08		0	ASSENTE	0.04		0	ASSENTE
	A72	4.15	55.4 - TBT	2	MEDIO	1.17	100 - As	1	TRASCURABILE
Aree potenzialmente impattate dalle operazioni di immersione	A47	0.18		0	ASSENTE	0.09		0	ASSENTE
	A50	0.09		0	ASSENTE	0.06		0	ASSENTE
	A53	0.09		0	ASSENTE	0.05		0	ASSENTE
	A59	4.04	72.1 - TBT	2	MEDIO	0.07		0	ASSENTE
	A62	1.5	100 - TBT	1	BASSO	0.07		0	ASSENTE
	A65	1.69	100 - TBT	1	BASSO	0.08		0	ASSENTE
	A68	1.59	100 - TBT	1	BASSO	0.07		0	ASSENTE

3.2. Risposte ecotossicologiche

3.2.1. Risultati dei saggi ecotossicologici

Nelle Tabelle 3.9-3.11, vengono mostrati i risultati dei singoli saggi ecotossicologici ottenuti con *Aliivibrio fischeri* in fase solida, *Phaeodactylum tricornutum* e *Crassostrea gigas* in fase liquida.

Per quanto riguarda il saggio con il batterio *Aliivibrio fischeri* effettuato sul sedimento in fase solida, i risultati ottenuti per la bioluminescenza riflettono una sostanziale assenza di tossicità per tutti i campioni ad eccezione di alcuni campioni dell'area di immersione (A23, A24, A74, A75 e A76) che hanno evidenziato una tossicità moderata (Tabella 3.9, Figura 3.4).

Il saggio effettuato con l'alga *Phaeodactylum tricornutum* ha evidenziato una percentuale di inibizione della crescita algale compresa tra 0.3% (A11) e 23% (A24); sette campioni (A20, A21, A75, A08, A17, A53 e A68) hanno invece evidenziato un generale fenomeno di biostimolazione della crescita algale (Tabella 3.10, Figura 3.5).

I risultati del saggio di embriotossicità con l'ostrica *C. gigas* vengono riportati nella Tabella 3.11 ed espressi come percentuale di esemplari malformati in tutti i campioni (compresi i controlli); nella Figura 3.6, i dati vengono invece presentati dopo correzione di Abbott. Complessivamente non si evidenziano particolari differenze tra le aree (Figura 3.6), con gli effetti biologicamente più rilevanti ottenuti nel campione A23 (area di immersione) che mostra una percentuale di malformati superiore al 35% (Tabella 3.11; Figura 3.6).

Monitoraggio Post-Operam 24 mesi – Risultati Sedimenti

Tabella 3.9 – Risultati del saggio con *Aliivibrio fischeri* in fase solida. Valori di bioluminescenza espressi in unità tossiche (U.T.) peso secco (p.s.) (medie ± deviazioni standard). Campagna febbraio 2023.

Area	Codice campione	Controllo	Campione
		U.T. (p.s.)	U.T. (p.s.)
Area di immersione	A20	319 ± 45,9	385,1 ± 64,5
	A21	299 ± 15,7	368,4 ± 59,4
	A22	336 ± 37,0	336,2 ± 53,8
	A23	336 ± 5,7	526,3 ± 88,6
	A24	338 ± 11,1	666,1 ± 74,9
	A74	337 ± 14,7	568,1 ± 104,0
	A75	335 ± 19,2	514,5 ± 90,3
	A76	325 ± 12,6	470,2 ± 50,4
Aree potenzialmente impattate dalle operazioni di dragaggio	A08	27,6 ± 0,3	2,889 ± 9,2
	A11	250 ± 17,1	222 ± 25,4
	A14	40,3 ± 0,9	0,456 ± 5,0
	A17	37,5 ± 1,5	6,709 ± 3,4
	A72	187 ± 14,7	24,95 ± 3,7
Aree potenzialmente impattate dalle operazioni di immersione	A47	277 ± 62,0	342 ± 54,3
	A50	164 ± 14,1	218,2 ± 23,3
	A53	68,2 ± 2,0	5,275 ± 0,3
	A59	60,6 ± 2,6	17,58 ± 42,6
	A62	171 ± 6,8	92,72 ± 17,7
	A65	149 ± 10,5	11,08 ± 1,0
	A68	145 ± 18,0	12,59 ± 9,9

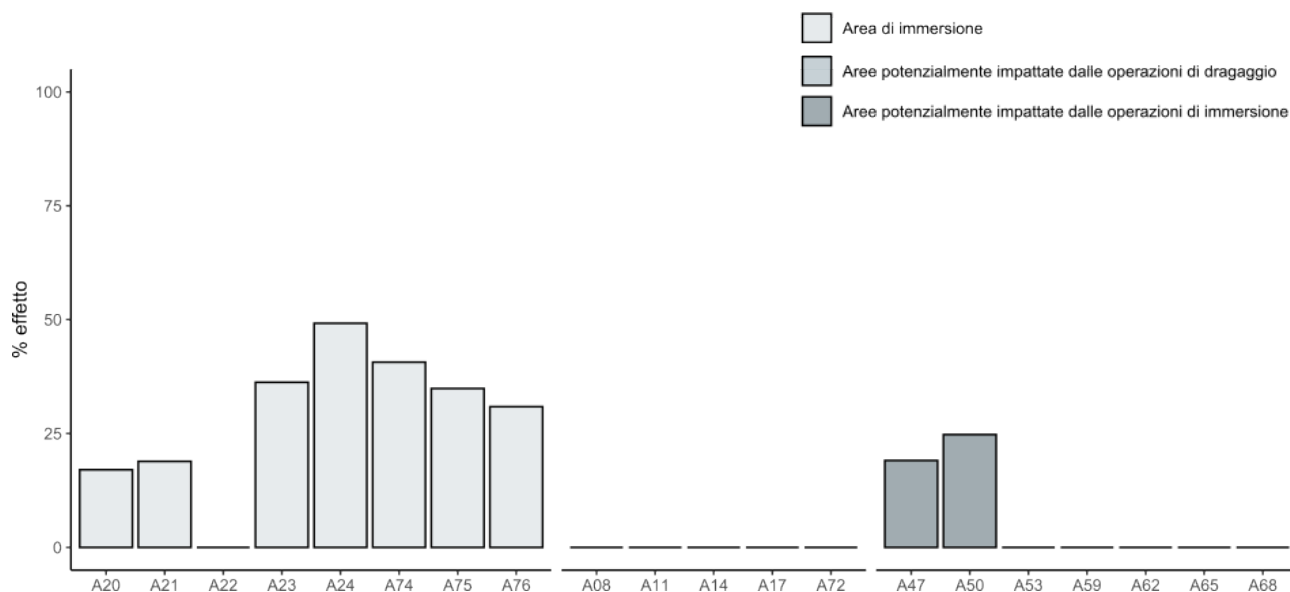


Figura 3.4 - Risultati del saggio con *Aliivibrio fischeri* in fase solida svolto sui sedimenti prelevati a febbraio 2023. Percentuale di effetto.

Monitoraggio Post-Operam 24 mesi – Risultati Sedimenti

Tabella 3.10 - Risultati del saggio con *Phaeodactylum tricornutum*. Valori di crescita algale espressi in $\text{cell} \times 10^3/\text{ml}$ (medie \pm deviazioni standard). Campagna febbraio 2023.

Area	Codice campione	$\text{cell} \times 10^3/\text{ml}$
	CTRL	1028,9 \pm 22,2
Area di immersione	A20	1048,9 \pm 250,3
	A21	1236,7 \pm 31,8
	A22	924,4 \pm 74,3
	A23	835,6 \pm 144,2
	A24	790,0 \pm 73,7
	A74	1030,0 \pm 219,6
	A75	1210,0 \pm 120,1
	A76	947,8 \pm 151,2
Aree potenzialmente impattate dalle operazioni di dragaggio	A08	1067,8 \pm 78,1
	A11	1025,6 \pm 148,2
	A14	881,1 \pm 55,9
	A17	1201,1 \pm 11,7
	A72	946,7 \pm 127,8
Aree potenzialmente impattate dalle operazioni di immersione	A47	836,7 \pm 63,6
	A50	1017,8 \pm 19,5
	A53	1140,0 \pm 166,7
	A59	903,3 \pm 134,5
	A62	990,0 \pm 99,6
	A65	982,2 \pm 77,1
	A68	1177,8 \pm 113,8

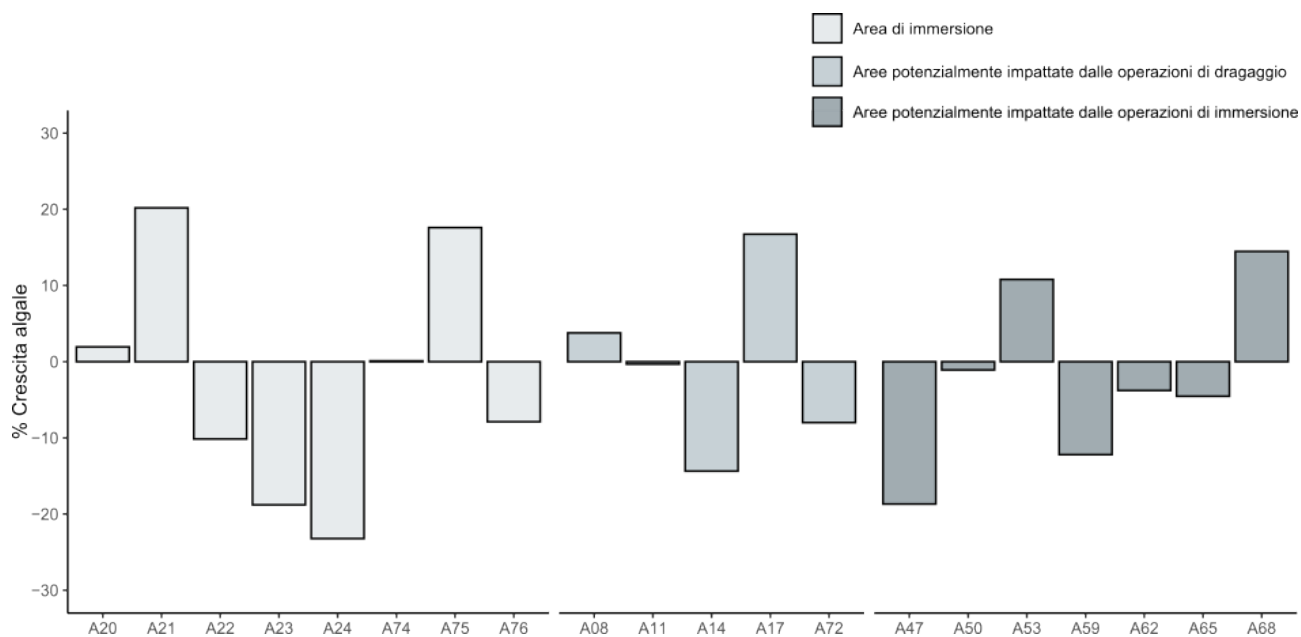


Figura 3.5 - Risultati del saggio con *Phaeodactylum tricornutum* svolto sui sedimenti prelevati a febbraio 2023. Percentuale di crescita algale.

Monitoraggio Post-Operam 24 mesi – Risultati Sedimenti

Tabella 3.11 – Risultati del saggio di embriotossicità con *Crassostrea gigas*. Valori di sviluppo espresso in % di esemplari malformati su tutti i campioni (medie ± deviazioni standard). Campagna febbraio 2023.

Area	Codice campione	% esemplari malformati
	CTRL	19,33 ± 3,882
Area di immersione	A20	19,67 ± 2,517
	A21	37,67 ± 7,572
	A22	25 ± 6,245
	A23	48,67 ± 4,041
	A24	35,67 ± 1,155
	A74	24,33 ± 4,726
	A75	40 ± 5,292
	A76	25 ± 2
Aree potenzialmente impattate dalle operazioni di dragaggio	A08	24,67 ± 2,887
	A11	35,67 ± 3,512
	A14	41 ± 3,606
	A17	45 ± 2,646
	A72	32,33 ± 5,859
Aree potenzialmente impattate dalle operazioni di immersione	A47	26,67 ± 4,163
	A50	43 ± 4,583
	A53	43,67 ± 12,9
	A59	36,33 ± 4,041
	A62	29,33 ± 6,807
	A65	30,67 ± 1,528
	A68	36 ± 10,58

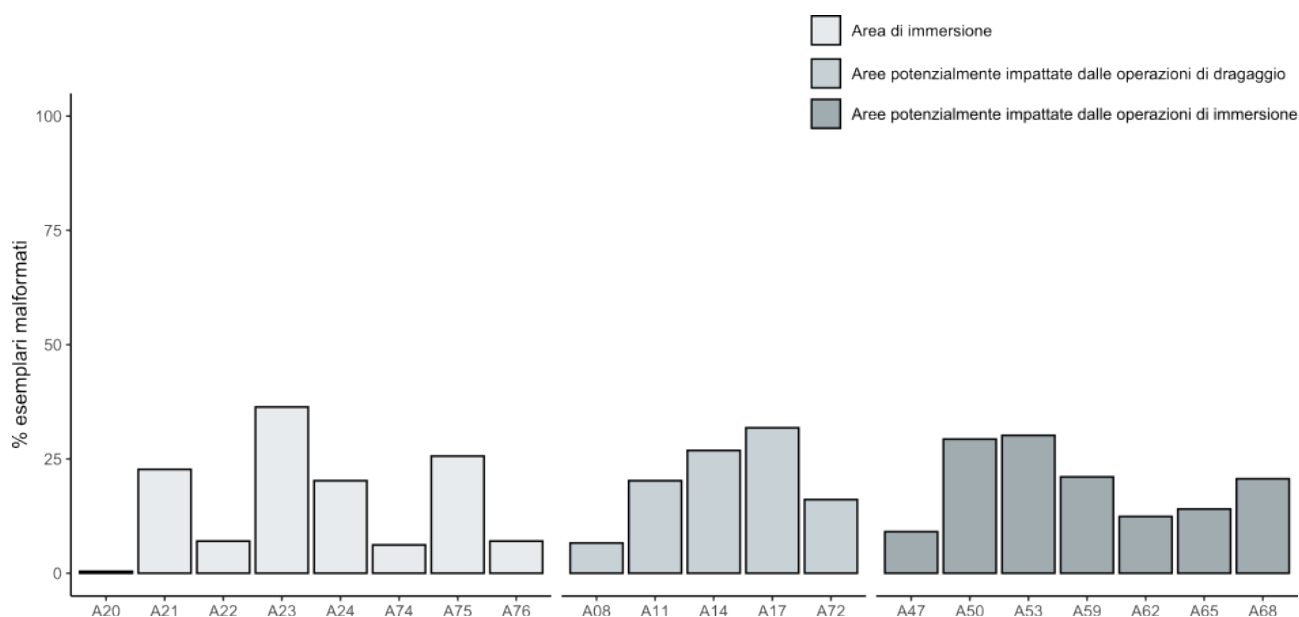


Figura 3.6 - Risultati del saggio di embriotossicità con *Crassostrea gigas* svolto sui sedimenti prelevati a febbraio 2023. Percentuale di esemplari malformati dopo correzione di Abbott.

3.2.3. Classificazione del pericolo ecotossicologico dei sedimenti

La Tabella 3.12 mostra i risultati dell'elaborazione della batteria dei saggi ecotossicologici condotti sui sedimenti.

I criteri di integrazione ponderata del DM 173/2016 consentono di abbandonare il principio della classificazione ecotossicologica determinata dal risultato peggiore: il giudizio sull'intera batteria dipende dalla rilevanza tossicologica dell'endpoint misurato in ciascun saggio, dalla soglia di sensibilità della specie, dalla significatività statistica ed entità delle variazioni misurate, dalle condizioni di saggio.

La classe di pericolo ecotossicologico elaborata per i campioni di sedimento prelevati durante la campagna di febbraio 2023 (Tabella 3.12) è risultata essere sempre Assente o Bassa, ad eccezione del campione A24 dell'area di immersione che ha evidenziato una classe di pericolo ecotossicologico Alta.

In generale, i saggi con *C. gigas* e *A. fischeri* sono stati quelli che hanno contribuito maggiormente alla tossicità complessiva della batteria.

Monitoraggio *Post-Operam* 24 mesi – Risultati Sedimenti

Tabella 3.12 – Elaborazione della classe di pericolo ecotossicologico ottenuta mediante i criteri di integrazione ponderata sulle batterie di saggi (DM 173/2016). Campagna febbraio 2023.

Area	Campione	Specie	Contr % HQ	HQ _{batteria}	Classificazione ecotossicologica
Area di immersione	A20	<i>Crassostrea gigas</i> <i>Phaeodactylum tricornutum</i> <i>Aliivibrio fischeri</i>		0.6	ASSENTE
	A21	<i>Crassostrea gigas</i> <i>Phaeodactylum tricornutum</i> <i>Aliivibrio fischeri</i>		0.42	ASSENTE
	A22	<i>Crassostrea gigas</i> <i>Phaeodactylum tricornutum</i> <i>Aliivibrio fischeri</i>		0.41	ASSENTE
	A23	<i>Crassostrea gigas</i> <i>Phaeodactylum tricornutum</i> <i>Aliivibrio fischeri</i>	5.3% 21.7% 73%	1	BASSO
	A24	<i>Crassostrea gigas</i> <i>Phaeodactylum tricornutum</i> <i>Aliivibrio fischeri</i>	34.4% 24.5% 41.1%	3.07	ALTO
	A74	<i>Crassostrea gigas</i> <i>Phaeodactylum tricornutum</i> <i>Aliivibrio fischeri</i>		0.93	ASSENTE
	A75	<i>Crassostrea gigas</i> <i>Phaeodactylum tricornutum</i> <i>Aliivibrio fischeri</i>	49.2% 0% 50.8%	1.24	BASSO
	A76	<i>Crassostrea gigas</i> <i>Phaeodactylum tricornutum</i> <i>Aliivibrio fischeri</i>		0.78	ASSENTE
Aree potenzialmente impattate dalle operazioni di dragaggio	A08	<i>Crassostrea gigas</i> <i>Phaeodactylum tricornutum</i> <i>Aliivibrio fischeri</i>		0.04	ASSENTE
	A11	<i>Crassostrea gigas</i> <i>Phaeodactylum tricornutum</i> <i>Aliivibrio fischeri</i>		0.29	ASSENTE
	A14	<i>Crassostrea gigas</i> <i>Phaeodactylum tricornutum</i> <i>Aliivibrio fischeri</i>		0.72	ASSENTE
	A17	<i>Crassostrea gigas</i> <i>Phaeodactylum tricornutum</i> <i>Aliivibrio fischeri</i>		0.45	ASSENTE
	A72	<i>Crassostrea gigas</i> <i>Phaeodactylum tricornutum</i> <i>Aliivibrio fischeri</i>		0.17	ASSENTE
Aree potenzialmente impattate dalle operazioni di immersione	A47	<i>Crassostrea gigas</i> <i>Phaeodactylum tricornutum</i> <i>Aliivibrio fischeri</i>	29.7% 35.5% 34.8%	1.27	BASSO
	A50	<i>Crassostrea gigas</i> <i>Phaeodactylum tricornutum</i> <i>Aliivibrio fischeri</i>		0.68	ASSENTE
	A53	<i>Crassostrea gigas</i> <i>Phaeodactylum tricornutum</i> <i>Aliivibrio fischeri</i>		0.42	ASSENTE
	A59	<i>Crassostrea gigas</i> <i>Phaeodactylum tricornutum</i> <i>Aliivibrio fischeri</i>		0.27	ASSENTE
	A62	<i>Crassostrea gigas</i> <i>Phaeodactylum tricornutum</i> <i>Aliivibrio fischeri</i>		0.32	ASSENTE
	A65	<i>Crassostrea gigas</i> <i>Phaeodactylum tricornutum</i> <i>Aliivibrio fischeri</i>		0.2	ASSENTE
	A68	<i>Crassostrea gigas</i> <i>Phaeodactylum tricornutum</i> <i>Aliivibrio fischeri</i>		0.2	ASSENTE

3.3. Classificazione della qualità dei sedimenti

Applicando i criteri di integrazione ponderata recepiti dal D.M. n. 173 del 15 luglio 2016 “Regolamento recante modalità e criteri tecnici per l'autorizzazione all'immersione in mare dei materiali di escavo di fondali marini”, l'elaborazione del pericolo chimico e del pericolo ecotossicologico dei sedimenti sono state integrate per elaborare la “Classe di Qualità” dei sedimenti analizzati.

Nella Tabella 3.13 sono riassunte per ogni campione di sedimento dell'area di immersione, dell'area potenzialmente impattata dalle operazioni di dragaggio e dell'area potenzialmente impattata dalle operazioni di immersione, la percentuale di pelite, la Classe di pericolo ecotossicologico, il contributo percentuale fornito a questo pericolo dall'elutriato, la Classe di pericolo chimico, e la Classe di Qualità complessiva del materiale: sebbene non siano previste attività di movimentazione dei sedimenti di tutte le aree, per una maggior confrontabilità dei risultati, vengono anche indicate quali sarebbero le opzioni gestionali eventualmente previste in seguito alla classificazione dei sedimenti ottenuta mediante DM 173/2016.

Per quanto riguarda i risultati delle attività di monitoraggio dopo due anni dal termine delle attività di immersione (febbraio 2023), i campioni delle diverse aree hanno evidenziato le seguenti Classi di qualità (Tabella 3.13):

Campioni dell'area di immersione (A20, A21, A22, A23, A24, A74, A75 e A76):

- I campioni **A20, A21, A22, A23, A74 e A76** sono risultati di **Classe A** ma con valori di pelite superiori a quanto previsto per ripascimento emerso. Secondo le indicazioni del DM 173/2016, questi sedimenti sarebbero compatibili con opzioni di gestione quali il ripascimento sommerso, l'immersione deliberata in aree marine non costiere o in ambiente conterminato marino-costiero.
- Il campione **A75** è risultato di **Classe B** e dunque compatibile con l'immersione deliberata in aree marine non costiere o in ambiente conterminato marino-costiero.
- Il campione **A24** è risultato di **Classe D**, e sarebbe compatibili con l'immersione in ambiente conterminato impermeabilizzato, con idonee misure di monitoraggio ambientale.

Campioni dell'area potenzialmente impattata dalle operazioni di dragaggio (A08, A11, A14, A17, A72):

- Tutti i campioni sono risultati di **Classe A**. Secondo quanto previsto dal DM 173/2016, i campioni A08, A14 e A17 hanno un contenuto di pelite tale da renderli idonei anche con il ripascimento della spiaggia emersa: tutti gli altri campioni sarebbero invece compatibili per opzioni di gestione quali il ripascimento sommerso, l'immersione deliberata in aree marine non costiere o in ambiente conterminato.

Campioni dell'area potenzialmente impattata dalle operazioni di immersione (A47, A50, A53, A59, A62, A65, A68):

- I campioni **A50, A53, A59, A62, A65 e A68** sono risultati di **Classe A** ma con un contenuto di pelite superiore a quello previsto per il ripascimento della spiaggia emersa. Secondo le indicazioni del DM 173/2016, questi sedimenti sarebbero compatibili con opzioni di gestione quali il ripascimento sommerso, l'immersione deliberata in aree marine non costiere o in ambiente conterminato marino-costiero.

Il campione **A47** è risultato di **Classe B** e dunque compatibile con l'immersione deliberata in aree marine non costiere o in ambiente conterminato marino-costiero.

Monitoraggio Post-Operam 24 mesi – Risultati Sedimenti

Tabella 3.13 –Classificazione di qualità dei sedimenti (classe di pericolo ecotossicologico, classificazione chimica, classe di qualità del materiale). Campagna febbraio 2023.

Area	Campione	% Pelite	Classe di pericolo ecotossicologico	Contributo % elutriato	Classe di pericolo chimico	Classe di qualità del materiale	Note
Area di immersione	A20	94	ASSENTE	37.9	HQc(L2) <= Trascurabile	A	Valori superiori a quanto indicato per ripascimento emerso
	A21	87.4	ASSENTE	0.3	HQc(L2) <= Trascurabile	A	Valori superiori a quanto indicato per ripascimento emerso
	A22	99.3	ASSENTE	99.9	HQc(L2) <= Trascurabile	A	Valori superiori a quanto indicato per ripascimento emerso
	A23	99.1	BASSO	20.3	HQc(L1) <= Basso	A	Pelite superiore a quanto indicato per ripascimento
	A24	100	ALTO	49.6	HQc(L2) <= Basso	D	
	A74	99.6	ASSENTE	3.6	HQc(L2) <= Trascurabile	A	Valori superiori a quanto indicato per ripascimento emerso
	A75	98.9	BASSO	32.2	HQc(L1) >= Medio e HQc(L2) <= Basso	B	
	A76	95.7	ASSENTE	12.5	HQc(L2) <= Trascurabile	A	Valori superiori a quanto indicato per ripascimento emerso
Aree potenzialmente impattate dalle operazioni di dragaggio	A08	0.5	ASSENTE	100	HQc(L2) <= Trascurabile	A	
	A11	64.9	ASSENTE	100	HQc(L2) <= Trascurabile	A	Valori superiori a quanto indicato per ripascimento emerso
	A14	4.8	ASSENTE	100	HQc(L2) <= Trascurabile	A	
	A17	3.9	ASSENTE	100	HQc(L2) <= Trascurabile	A	
	A72	51.8	ASSENTE	100	HQc(L2) <= Trascurabile	A	Valori superiori a quanto indicato per ripascimento emerso
Aree potenzialmente impattate dalle operazioni di immersione	A47	80.3	BASSO	63.4	HQc(L1) >= Medio e HQc(L2) <= Basso	B	
	A50	34	ASSENTE	20.0	HQc(L2) <= Trascurabile	A	Pelite superiore a quanto indicato per ripascimento emerso
	A53	13.6	ASSENTE	100	HQc(L2) <= Trascurabile	A	Pelite superiore a quanto indicato per ripascimento emerso
	A59	11.3	ASSENTE	100	HQc(L2) <= Trascurabile	A	Pelite superiore a quanto indicato per ripascimento emerso
	A62	46.2	ASSENTE	100	HQc(L2) <= Trascurabile	A	Pelite superiore a quanto indicato per ripascimento emerso
	A65	39.5	ASSENTE	100	HQc(L2) <= Trascurabile	A	Pelite superiore a quanto indicato per ripascimento emerso
	A68	38.2	ASSENTE	100	HQc(L2) <= Trascurabile	A	Pelite superiore a quanto indicato per ripascimento emerso

4. Valutazioni complessive e conclusioni

I risultati complessivi di questa indagine hanno evidenziato un livello di pericolo chimico Assente o Trascurabile nei confronti di L2 per tutti i campioni delle tre aree. Se si confrontano tutti i campionamenti effettuati, è evidente che dopo 6 mesi, 1 anno e 2 anni dal termine delle attività di immersione (settembre 2021, febbraio 2022 e febbraio 2023), il livello di pericolo chimico migliora in tutte le tre aree risultando tipicamente Assente (Trascurabile in un unico campione, Tabella 4.1).

Tabella 4.1 – Confronto delle elaborazioni del livello di pericolo chimico nei confronti di L2 ottenute nel 2018 (*ante operam*), maggio 2020 (*corso d'opera I anno*), dicembre 2020 e febbraio 2021 (*corso d'opera II anno*), settembre 2021 (dopo sei mesi dal termine delle attività di immersione), febbraio 2022 (dopo un anno dal termine delle attività di immersione) e febbraio 2023 (dopo due anni dal termine delle attività di immersione).

Area	Codice campione	Classe di pericolo chimico (L2; DM 173/16)						
		2018	mag-20	dic-20	feb-21	set-21	feb-22	feb-23
Area di immersione	A20	BASSO	ASSENTE	ASSENTE	MEDIO	ASSENTE	ASSENTE	ASSENTE
	A21	MEDIO	ALTO	ASSENTE	BASSO	ASSENTE	ASSENTE	ASSENTE
	A22	ASSENTE	ASSENTE	ASSENTE	BASSO	ASSENTE	ASSENTE	ASSENTE
	A23	MEDIO	BASSO	ASSENTE	BASSO	ASSENTE	ASSENTE	ASSENTE
	A24	MEDIO	TRASCURABILE	ASSENTE	MEDIO	ASSENTE	ASSENTE	ASSENTE
	A74	BASSO	ALTO	ASSENTE	BASSO	ASSENTE	ASSENTE	ASSENTE
	A75	TRASCURABILE	BASSO	ASSENTE	BASSO	ASSENTE	ASSENTE	ASSENTE
	A76	MEDIO	MEDIO	ASSENTE	BASSO	ASSENTE	ASSENTE	ASSENTE
Aree potenzialmente impattate dalle operazioni di dragaggio	A08 (0-50)	ASSENTE	ASSENTE	ASSENTE	ASSENTE	ASSENTE	ASSENTE	ASSENTE
	A08 (50-100)		ASSENTE					
	A11 (0-50)	ASSENTE	MEDIO	ASSENTE	ASSENTE	ASSENTE	ASSENTE	ASSENTE
	A11 (50-100)		ASSENTE					
	A14 (0-50)	ASSENTE	MEDIO	ASSENTE	ASSENTE	ASSENTE	ASSENTE	ASSENTE
	A14 (50-100)		ASSENTE					
	A17 (0-50)	ASSENTE	ASSENTE	ASSENTE	ASSENTE	ASSENTE	ASSENTE	ASSENTE
	A17 (50-100)		ASSENTE					
	A72 (0-50)	ASSENTE	ASSENTE	ASSENTE	ASSENTE	ASSENTE	ASSENTE	TRASCURABILE
A72 (50-100)	ASSENTE							
Aree potenzialmente impattate dalle operazioni di immersione	A47	ASSENTE	BASSO	ASSENTE	ASSENTE	ASSENTE	ASSENTE	ASSENTE
	A50	ASSENTE	ALTO	ASSENTE	BASSO	ASSENTE	ASSENTE	ASSENTE
	A53	ASSENTE	BASSO	ASSENTE	ASSENTE	ASSENTE	ASSENTE	ASSENTE
	A59	ASSENTE	ALTO	ASSENTE	BASSO	ASSENTE	ASSENTE	ASSENTE
	A62	ASSENTE	BASSO	ASSENTE	ASSENTE	ASSENTE	ASSENTE	ASSENTE
	A65	ASSENTE	ALTO	-	-	ASSENTE	-	ASSENTE
	A68	ASSENTE	ASSENTE	-	-	ASSENTE	-	ASSENTE

Anche per quanto riguarda il livello di pericolo ecotossicologico, i campioni della campagna di febbraio 2023 (2 anni dal termine delle attività di immersione), evidenziano un generale miglioramento del livello di pericolo ecotossicologico per i campioni delle tre aree dove risulta Assente o Basso, ad eccezione di un unico campione dell'area di immersione (A24) che presenta un livello di pericolo Alto.

Tabella 4.2 – Confronto delle elaborazioni del livello di pericolo ecotossicologico ottenute nel 2018 (*ante operam*), maggio 2020 (*corso d'opera I anno*), dicembre 2020 e febbraio 2021 (*corso d'opera II anno*), settembre 2021 (dopo sei mesi dal termine delle attività di immersione), febbraio 2022 (dopo un anno dal termine delle attività di immersione) e febbraio 2023 (dopo due anni dal termine delle attività di immersione).

Area	Campione	Classe del pericolo ecotossicologico						
		2018	mag-20	dic-20	feb-21	set-21	feb-22	feb-23
Area di immersione	A20	ASSENTE	ASSENTE	ASSENTE	MEDIO	ASSENTE	ASSENTE	ASSENTE
	A21	ASSENTE	MEDIO	ASSENTE	ASSENTE	MEDIO	ASSENTE	ASSENTE
	A22	ASSENTE	BASSO	ASSENTE	MEDIO	BASSO	ASSENTE	ASSENTE
	A23	ASSENTE	ASSENTE	MEDIO	MEDIO	BASSO	BASSO	BASSO
	A24	ASSENTE	BASSO	ASSENTE	BASSO	MEDIO	ASSENTE	ALTO
	A74	ASSENTE	ASSENTE	ASSENTE	BASSO	ASSENTE	MEDIO	ASSENTE
	A75	ASSENTE	ASSENTE	ASSENTE	ASSENTE	MEDIO	ASSENTE	BASSO
	A76	ASSENTE	BASSO	ASSENTE	MEDIO	BASSO	ASSENTE	ASSENTE
Aree potenzialmente impattate dalle operazioni di dragaggio	A08	ASSENTE	MEDIO	ASSENTE	ASSENTE	ASSENTE	ASSENTE	ASSENTE
	A11	ASSENTE	MEDIO	ASSENTE	ASSENTE	ASSENTE	MEDIO	ASSENTE
	A14	MEDIO	ASSENTE	MEDIO	ASSENTE	ASSENTE	ASSENTE	ASSENTE
	A17	ASSENTE	ASSENTE	ASSENTE	ASSENTE	ASSENTE	MEDIO	ASSENTE
	A72	BASSO	ASSENTE	ASSENTE	MEDIO	ASSENTE	ASSENTE	ASSENTE
Aree potenzialmente impattate dalle operazioni di immersione	A47	BASSO	ASSENTE	ASSENTE	ASSENTE	ASSENTE	MEDIO	BASSO
	A50	ASSENTE	ASSENTE	ASSENTE	ASSENTE	ASSENTE	MEDIO	ASSENTE
	A53	ASSENTE	ASSENTE	ASSENTE	ASSENTE	ASSENTE	MEDIO	ASSENTE
	A59	ASSENTE	ASSENTE	ASSENTE	ASSENTE	BASSO	ASSENTE	ASSENTE
	A62	ASSENTE	ASSENTE	ASSENTE	ASSENTE	ASSENTE	ASSENTE	ASSENTE
	A65	MEDIO	ASSENTE	-	-	ASSENTE	-	ASSENTE
	A68	ASSENTE	ASSENTE	-	-	ASSENTE	-	ASSENTE

La Tabella 4.3 mostra il confronto della classificazione della qualità dei sedimenti nelle campagne del 2018 (*ante operam*), maggio 2020 (corso d'opera del I anno), dicembre 2020 e febbraio 2021 (rispettivamente al 50% e al 100% delle attività di immersione), settembre 2021 e febbraio 2022 (rispettivamente dopo sei mesi e un anno dal termine delle attività di immersione) e febbraio 2023 (dopo due anni dal termine delle attività di immersione).

Nell'area di immersione dopo 2 anni dal termine delle attività di immersione si osserva un generale miglioramento della classe di qualità dei sedimenti che risultano paragonabili alla situazione *ante operam*, essendo tutti di classe "A" (B per il campione A75). Fa eccezione il campione A24 che risulta invece di classe "D": l'unicità di questo campione, che peraltro presenta una caratterizzazione chimica con pericolo Assente, evidenzia una situazione puntiforme sulle risposte ecotossicologiche, e quindi tale da permettere di escludere una qualche forma di impatto generalizzabile nell'area oggetto di studio. I risultati complessivi evidenziano un trend temporale caratterizzato da un generale peggioramento della classe di qualità dei sedimenti durante le attività di corso d'opera del II anno tra le due fasi di immersione: mentre i sedimenti prelevati durante la fase di dragaggio al 50% (dicembre 2020) erano risultati tutti in classe "A" ad eccezione di A23, i sedimenti prelevati al 100% del materiale rimosso (febbraio 2021) avevano evidenziato un peggioramento con una classe di qualità prevalentemente di tipo "C" e con un campione in "D". Dai risultati ottenuti nei campionamenti effettuati al termine delle attività, la situazione complessiva dei campioni prelevati all'interno dell'area di immersione sembra essere tornata ai livelli iniziali misurati in fase *ante operam*.

I sedimenti delle aree potenzialmente impattate dalle operazioni di dragaggio e di quelli delle aree potenzialmente impattate dalle operazioni di immersione avevano evidenziato nel febbraio 2022 un peggioramento di classe di qualità da "A" a "C" per alcuni campioni (A11-A17, A47, A50 e A53). Dopo due anni dal termine delle attività di immersione, tutti i campioni presentano una classe di qualità "A", con l'eccezione del campione A47 (classe "B"). Confrontando questi risultati con quelli ottenuti al 50% e 100% delle attività di immersione (dicembre 2020 e febbraio 2021), e con quelli della fase corso d'opera I anno (maggio 2020) o *ante operam* (2018), la situazione complessiva risulta paragonabile a quella antecedente l'inizio delle operazioni, con la sostanziale assenza di criticità ambientali.

In conclusione, i risultati complessivi permettono di escludere fenomeni di impatto a seguito delle attività di deposizione nelle aree oggetto di studio.

Tabella 4.3 – Confronto delle elaborazioni della classe di qualità dei sedimenti ottenute nel 2018 (*ante operam*), maggio 2020 (*corso d'opera I anno*), dicembre 2020 e febbraio 2021 (*corso d'opera II anno*), settembre 2021 (dopo sei mesi dal termine delle attività di immersione), febbraio 2022 (dopo un anno dal termine delle attività di immersione) e febbraio 2023 (dopo due anni dal termine delle attività di immersione).

Area	Campione	Classe di qualità del materiale						
		2018	mag-20	dic-20	feb-21	set-21	feb-22	feb-23
Area di immersione	A20	B	A	A	D	A	A	A
	A21	B	C	A	B	C	A	A
	A22	A	B	A	C	A	A	A
	A23	B	B	C	C	A	A	A
	A24	B	A	A	C	C	A	D
	A74	B	C	A	A	A	C	A
	A75	A	B	A	B	C	A	B
	A76	B	A	A	C	B	A	A
Aree potenzialmente impattate dalle operazioni di dragaggio	A08	A	C	A	A	A	A	A
	A11	A	C	A	A	A	C	A
	A14	C	A/B	C	A	A	A	A
	A17	A	A	A	A	A	C	A
	A72	A	A	A	C	A	A	A
Aree potenzialmente impattate dalle operazioni di immersione	A47	A	B	A	A	A	C	B
	A50	A	C	A	B	A	C	A
	A53	A	B	A	A	A	C	A
	A59	A	C	A	B	A	A	A
	A62	A	B	A	A	A	A	A
	A65	C	C	-	-	A	-	A
	A68	A	A	-	-	A	-	A

5. Bibliografia citata

- ASTM (1995). Standard guide for conducting static acute toxicity tests with echinoid embryos- E 1563-95. *American Society for Testing and Materials*, Philadelphia, pp. 1029-1046.
- Azur Environmental, 1995. Microtox acute toxicity basic test procedures, 63.
- Benedetti, M., Ciaprini, F., Piva, F., Onorati, F., Fattorini, D., Notti, A., Ausili, A., Regoli, F., 2012. A multidisciplinary weight of evidence approach toward polluted sediments: integrating sediment chemistry, bioavailability, biomarkers responses and bioassays. *Environment International*, 38, pp. 17-28.
- Benedetti, M., Gorbi, S., Fattorini, D., d'Errico, G., Piva, F., Pacitti, D., Regoli, F. 2014. Environmental hazards from natural hydrocarbons seepage: Integrated classification of risk from sediment chemistry, bioavailability and biomarkers responses in sentinel species. *Environmental Pollution*, 185, pp. 116-126.
- 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 harbor areas. *Aquatic Toxicology*, 89 (4): 257-266.
- Buurman P., van Lagen B., Velthorst E. J, 1996. Manual for Soil and Water Analysis. Backhuys Publishers Leiden, The Netherlands.
- Carr, R.S., Chapman, D.C. 1995. Comparison of methods for conducting marine and estuarine sediment porewater toxicity tests – extraction, storage and handling techniques. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 28, 69–77.
- 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. *Water Research*, 26 (9): 1171-1176.
- DM 173 del 15 luglio 2016. Regolamento recante modalità e criteri tecnici per l'autorizzazione all'immersione in mare dei materiali di escavo di fondali marini. *GU Serie Generale* n.208 del 06-09-2016 - Suppl. Ordinario n. 40.
- Dumas J.B.A. 1831. Procédés de l'analyse organique. *Ann.Chim.Phys.* 247: 198-213.
- Ellman, G.L., Courtney, K.D., Andres Jr., V., Featherstone, R.M., 1961. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*, 7 (2), pp. 88-90.
- Environment Canada (1992). Biological test method: fertilization assay using Echinoids (sea urchins and sand dollars). *Environmental Protection Series*. EPS 1/RM/27, Ottawa, Canada.
- Etiopio, G., Panieri, G., Fattorini, D., Regoli, F., Vannoli, P., Italiano, F., Locritani, M., Carmisciano, C. 2014. A thermogenic hydrocarbon seep in shallow Adriatic Sea (Italy): Gas origin, sediment contamination and benthic foraminifera. *Marine and Petroleum Geology*, 57: 283-293.

Monitoraggio *Post-Operam* 24 mesi – Risultati Sedimenti

- 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.
- Hansen, H.P., Koroleff, F. 1999. Determination of nutrients. In: Grasshoff, K., Kremling, K., Ehrhardt, M., Methods of Seawater Analysis, 3rd Edition, Wiley-VCH, Weinheim, 600 pp.
- ICES (2013). International Council for the Exploration of the Sea. <https://doi.org/10.17895/ices.pub.5082>
- ICES-International Council for the Exploration of the Sea, *Techniques in Marine Environmental Sciences* No. 22, 1998. Biological effects of contaminants: Cholinesterase inhibition by organophosphate and carbamate compounds.
- ICES-International Council for the Exploration of the Sea, *Techniques in Marine Environmental Sciences* No. 56, 2015. Lysosomal membrane stability in mussels.
- ICES-International Council for the Exploration of the Sea, *Techniques in Marine Environmental Sciences* No. 315, 2012. Integrated marine environmental monitoring of chemicals and their effects.
- 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 International Organization for Standardization 2006. Water quality - Marine algal growth inhibition test with *Skeletonema costatum* and *Phaeodactylum tricornutum*. *Draft International Standard ISO/DIS 102531*. ISO, Genève, Switzerland.
- Leverett, Dean, and John Thain. Oyster embryo-larval bioassay (revised). *International Council for the Exploration of the Sea*, 2013.
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., Randall, R.J., 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *The Journal of biological chemistry*, 193 (1), pp. 265-275.
- 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.
- Regoli F., Bocchetti R., Wilhelm Filho D. (2011). Spectrophotometric assays of antioxidants. In (Abele D., Vazquez-Medina J.P., Zenteno-Savín T. Eds) *Oxidative stress in aquatic ecosystems*. *Wiley-Blackwell*, pp: 367-380
- Regoli, F., 1992. Lysosomal responses as a sensitive stress index in biomonitoring heavy metal pollution. *Marine Ecology Progress Series*, 84 (1), pp. 63-69.

Monitoraggio *Post-Operam* 24 mesi – Risultati Sedimenti

- Regoli, F., d'Errico, G., Nardi, A., Mezzelani, M., Fattorini, D., Benedetti, M., Di Carlo, M., Pellegrini, D., Gorbi, S. 2019. Application of a weight of evidence approach for monitoring complex environmental scenarios: The case-study of off-shore platforms. *Frontiers in Marine Science*. 6; 377.
- Regoli, F., Winston, G.W., 1999. Quantification of total oxidant scavenging capacity of antioxidants for peroxy nitrite, peroxy radicals, and hydroxyl radicals. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 156 (2), pp. 96-105.
- US EPA (1991). Earle-Standard Operating Procedure Conducting the Sea Urchin *Arbacia punctulata* Fertilization Test. *Environmental Research Laboratory*, Narragansett, RI, pp 125-131.