



In questo numero:

Le Iniziative dell'Istituto di Ricerca sulle Acque per il Centenario del CNR **2**

Mix-tool: uno strumento applicativo per la valutazione del rischio ecotossicologico da miscele di pesticidi nelle acque superficiali **5**

Monitoraggio e quantificazione del trasporto solido in sospensione: sviluppo di *sediment rating curve* **19**

Saggio acuto di sviluppo larvale con il copepode arpacicoide *Tigriopus fulvus* **24**

Ottimizzazione di una metodica analitica per la determinazione di polibromodifenileteri (PBDE) in sedimenti marini mediante *estrazione liquida pressurizzata (PLE)* e analisi in GC-MS **30**

News:

PHOENIX: protection, resilience, rehabilitation of damaged environment **43**

Linea guida linea guida per la definizione di valori limite di emissione per le sostanze chimiche prioritarie, pericolose prioritarie e per gli inquinanti specifici **46**

Biodegradazione di contaminanti organici e possibili applicazioni per il biorimedia di aree contaminate **47**

Microorganismi associati ad ammendanti organici e loro ruolo nel biorecupero di un suolo degradato a pH alcalino **50**

Editoriale

Quest'anno, il 18 novembre, ricorre il centenario della fondazione del Consiglio Nazionale delle Ricerche (1923-2023) che viene celebrato dall'Ente e dal suo personale come un percorso alla riscoperta della propria storia, dell'impatto della ricerca scientifica sulla società, delle prospettive e delle sfide che la attendono. Ed è per questo che anche noi abbiamo voluto dedicare questo numero del Notiziario dei Metodi Analitici per le Acque al CNR e al suo Centenario, inserendo anche una sezione che presenta alcune attività che il nostro Istituto ha organizzato per celebrare questo evento.

Come tradizione della rivista, in questo numero presentiamo alcuni articoli che riguardano lo sviluppo di metodi per l'analisi chimica, la valutazione del rischio ecotossicologico e gli studi idrologici.

In particolare viene presentato un metodo per la determinazione di polibromodifenileteri (PBDE) in sedimenti marini anche in carote raccolte in aree remote, che permetterà di ottenere una ricostruzione temporale della diffusione ambientale di questa classe di molecole persistenti e bromurate. Il ruolo del nostro Istituto negli studi degli ambienti marini è testimoniato anche dal nuovo saggio acuto di sviluppo larvale con il copepode arpacicoide *Tigriopus fulvus* specie molto diffusa nel Mar Mediterraneo, utile alla valutazione dei possibili effetti dovuti all'immissione di singole (o miscele di) sostanze potenzialmente tossiche.

Per dare una risposta al problema della valutazione del rischio ecotossicologico da miscele di prodotti fitosanitari nelle acque superficiali è stato sviluppato un nuovo strumento applicativo, detto Mix-tool per migliorare le attuali procedure di valutazione del rischio ecologico ed evitare un ulteriore deterioramento della qualità ecologica delle risorse naturali.

La valutazione dello stato di un corpo idrico non si può limitare allo studio delle biodiversità e dei potenziali effetti tossici degli inquinanti presenti, ma deve essere integrata con la conoscenza delle dinamiche idrologiche e di trasporto solido mediante nuovi strumenti di monitoraggio quale quello presentato in questo numero del Notiziario, nel quale vengono sviluppate apposite curve sperimentali per la quantificazione del trasporto solido in sospensione.

Ancora una volta, questo numero del Notiziario testimonia l'approccio multidisciplinare alla ricerca sullo stato dei corpi idrici portata avanti dal nostro Istituto come sua ricchezza identificativa fin dalla sua fondazione.

Stefano Polesello
Direttore Scientifico



Le Iniziative dell'Istituto di Ricerca sulle Acque per il Centenario del CNR

Il 18 novembre 2023 il CNR compirà 100 anni e, già da novembre 2022, sia la Presidente che tutti gli istituti si sono impegnati in diversi eventi. L'anno delle celebrazioni è iniziato con un video messaggio della Presidente Maria Chiara Carrozza (La scienza venuta dal futuro: verso i 100 anni del CNR) rivolto a tutti coloro che hanno contribuito e contribuiscono alla crescita della scienza italiana, alla leadership industriale e all'innovazione sociale. Il video messaggio ospita non solo i contributi del Presidente dell'Accademia Nazionale dei Lincei (Roberto Antonelli) e del Vicepresidente e Premio Nobel Giorgio Parisi, ma anche di alcuni protagonisti del CNR di oggi e di domani, condividendo auguri, aspirazioni, incoraggiamenti e speranze per il futuro dell'Ente e della ricerca.



Anche una nostra giovane dottoranda ha espresso un suo augurio per i prossimi 100 anni al CNR: “Il mio augurio per il CNR è di investire sempre di più nella ricerca in campo ambientale e di promuovere il supporto di giovani esperti e favorire il loro inserimento nell’ambito della ricerca”.

Tante altre importanti iniziative del nostro Istituto sono state intraprese, anche in collaborazione con altri Istituti del CNR e col Dipartimento Scienze del Sistema Terra e Tecnologie per l'Ambiente. Sicuramente la più rappresentativa è la partecipazione dell'Istituto alla mostra: ANTHROPOCENE. LA TERRA A FERRO E FUOCO, visitabile

dal 6 maggio al 5 luglio (orario 10-18 tutti i giorni) a Venezia, presso la Palazzina Canonica, sede storica dell'Istituto di scienze marine del CNR, a Riva dei Sette Martiri, 1364/A (<https://antropocene.cnr.it>).



La mostra, composta di diversi pannelli frutto della competenza scientifica dei ricercatori CNR, è dedicata all'Antropocene, epoca geologica attuale, in cui l'azione umana condiziona fortemente l'ambiente terrestre. Nonostante l'entità e la pervasività delle trasformazioni in atto, molti degli impatti causati dall'Uomo rimangono "invisibili". La mostra, basata su un'analisi interdisciplinare, vuole sensibilizzare il pubblico su questi impatti, non meno gravi di quelli più noti, attraverso immagini, filmati, infografiche e installazioni interattive, che stimolino la percezione sensoriale dei visitatori, che potranno 'osservare' e 'sentire' in pochi istanti fenomeni difficili da cogliere nella vita quotidiana per la scala spaziale e temporale in cui si svolgono. Noi non vediamo processi che si sviluppano su tempi più lunghi di una generazione, come la fusione delle calotte di ghiaccio polari, o in spazi remoti come i fondali marini o i deserti; né cogliamo impatti che si diffondono a scale microscopiche come le nanoplastiche nell'ambiente e nei nostri corpi. I pannelli della mostra sono visibili sul sito <https://antropocene.cnr.it/>.



Il Gruppo di Lavoro Seminari di IRSA-CNR ha, inoltre, organizzato, all'interno delle celebrazioni per il Centenario del CNR e in occasione della Giornata Mondiale dell'Acqua, il 22 marzo scorso, il workshop dal titolo "Le microplastiche in ambiente d'acqua dolce: caratterizzazione, monitoraggio e possibili impatti sugli ecosistemi e sulla salute umana", che con circa 160 iscritti ha permesso un confronto significativo sui nuovi approcci di monitoraggio e caratterizzazione delle microplastiche e sugli impatti di questi nuovi inquinanti sulla salute e sugli ecosistemi. Sono intervenuti come

relatori esterni Marisa Sárria Pereira de Passos (European Commission, Joint Research Centre (JRC), Ispra), Maria Sighicelli (ENEA C.R. CASACCIA, Laboratorio Biodiversità e Servizi Ecosistemici), Stefania Di Vito (Legambiente ONLUS) oltre a sei ricercatori dell'IRSA, permettendo un proficuo scambio scientifico e dimostrando come queste occasioni di incontro siano una reale opportunità per la nascita di nuove collaborazioni.

E' stato inoltre presentato il 10 marzo 2023 a Milano il documentario ufficiale del progetto LIFE FALKON - *Life on the move* presso il Centro Congressi CNR (Lambrate). Grazie alle meravigliose immagini di Aurelien Prudor, documentarista di fama internazionale, gli spettatori hanno scoperto come la specie mediterranea del Grillaio (*Falco naumanni*), abbia da poco conquistato il Nord Italia, a causa del cambiamento climatico. Nell'area agricola della pianura padana però ha un grosso problema in quanto non ha più posti dove nidificare, tipicamente gli antichi casolari contadini ormai abbandonati. LIFE FALKON interviene qui: attraverso un accorto studio ha messo a punto strategie di conservazione innovative, basate sulla costruzione e messa a disposizione del Grillaio di centinaia di cassette nido e di alcuni veri e propri 'condomini' per uccelli. Inoltre, il progetto si occupa di fare formazione tra agricoltori-



ri, architetti, cittadini e soprattutto bambini per educare alla protezione e conservazione di questa ed altre specie minacciate. Per la prima volta sul grande schermo sarà proiettato il documentario della durata di 15 minuti del progetto 'LIFE FALKON' (<http://lifefalkon.eu/it/life-on-the-move>). Il CNR è da sempre impegnato su queste tematiche, e nell'anno del suo Centenario è anche diventato capofila dell'imponente *National Biodiversity Future Centre* (nbfc.it), da cui si dirigerà la ricerca in questo campo negli

anni a venire. E' dunque logico associare il lancio del documentario del progetto LIFE FALKON (coordinato dall'Istituto di Ricerca Sulle Acque del CNR e realizzato con altri partner prestigiosi tra cui ISPRA - Istituto di Ricerca e Protezione Ambientale ed Università di Milano) agli eventi del Centenario CNR. Per questo, la mattinata è stata dedicata alla proiezione del filmato 'Cento anni di CNR - La ricerca venuta dal futuro'.




LA RICERCA VENUTA DAL FUTURO

VALUTAZIONE RISCHIO PER GLI ECOSISTEMI ACQUATICI (ID106)

IMPATTO CHIMICO ED EFFETTI DELLA PRESENZA DI CONTAMINANTI ORGANICI ED INORGANICI NELLE ACQUE INTERNE

L. Guzzella, S. Tasselli, L. Valsecchi, L. Marziali

Giugno 2023

Il Centenario del CNR è realizzato con il contributo della Presidenza del Consiglio dei Ministri e con il Patrocinio di Rai

IRSA CNR

PREMIATA DALLA COMMISSIONE EUROPEA

UNIVERSITÀ NAZIONALE

Rai

Un'altra iniziativa è il webinar organizzato da IRSA che si svolgerà a Giugno inerente alla contaminazione degli ecosistemi acquatici, un argomento "di punta" del nostro Istituto. Ulteriori particolari informazioni saranno disponibili sul sito del Centenario del CNR (<https://centenario.cnr.it/>) e sul sito del nostro Istituto nella sezione news (https://www.irsacnr.it/wp/?page_id=3939).

Infine, gli istituti del CNR con sede a Bari festeggeranno il Centenario del CNR in Ottobre con una giornata dedicata alla "Festa degli Alberi". L'idea è aggregare le competenze del CNR in tavoli di lavoro su 4 macro-aree, in analogia con le parti di cui si compone un albero: radici, tronco, foglie e frutti. La mattina saranno organizzati dei laboratori didattici presso alcune scuole elementari che termineranno con la piantumazione di alberi. Nel pomeriggio, la sera e la notte l'evento sarà rivolto all'intera comunità cittadina, in luoghi e secondo modalità che sono in via di definizione. L'Agenzia Regionale Attività Irriguo e Forestali (ARIF) metterà a disposizione 200 giovani alberi da destinare alla piantumazione. L'evento è coordinato da Cinzia Giannini (direttrice Istituto di Cristallografia) e vede la partecipazione anche di Università e Politecnico di Bari. Il referente per l'IRSA è Pompilio Vergine.



MIX-TOOL: uno strumento applicativo per la valutazione del rischio ecotossicologico da miscele di pesticidi nelle acque superficiali

a cura di

Antonio Finizio (*), Andrea Di Guardo, *Dipartimento di Scienze della Terra e dell'Ambiente, Università di Milano-Bicocca, Milano, Italia*

Luca Menaballi, *Dipartimento di Scienze della Terra e dell'Ambiente, Università di Milano-Bicocca, Milano, Italia; TEAM mastery srl, Como*

Anna Barra Caracciolo, *CNR, Istituto di Ricerca sulle Acque, Montelibretti (Roma)*

Paola Grenni, *CNR, Istituto di Ricerca sulle Acque, Montelibretti (Roma) & National Biodiversity Future Center, Palermo*

RIASSUNTO

L'attuale normativa Europea per l'autorizzazione dei prodotti fitosanitari (*Plant Protection Products*, PPPs) si limita alla valutazione dei rischi ecologici per le singole sostanze attive, sebbene i formulati commerciali spesso contengano più sostanze attive; inoltre, per ogni coltura agraria, vengono applicati diversi principi attivi durante l'anno. Questo dà luogo ad una serie di miscele complesse di pesticidi nell'ambiente, ed in particolare nel comparto acquatico dove la loro presenza può esercitare degli effetti tossici sugli organismi presenti. In questo contesto, è essenziale lo sviluppo di strumenti utili nella gestione del rischio ambientale da miscele di PPPs per migliorare le attuali procedure di valutazione del rischio ecologico ed evitare un ulteriore deterioramento della qualità ecologica delle risorse naturali.

Il presente articolo nasce dalle attività di ricerca svolte dall'IRSA-CNR in collaborazione con l'Università degli Studi di Milano-Bicocca nell'ambito dell'Accordo di collaborazione con il Ministero dell'Ambiente "Valutazione degli effetti combinati delle miscele di sostanze", con un approfondimento ulteriore mediante lo sviluppo di un nuovo strumento (MIX-TOOL). Il Tool identifica le principali miscele di PPPs tipicamente emesse, durante il ciclo produttivo, da una coltura agraria e che sono potenzialmente presenti nelle acque superficiali. Il tool sviluppato, basato su Microsoft-Excel, è in linea con il contesto normativo europeo per l'autorizzazione all'immissione sul mercato dei PPPs (valutazione del rischio *hedge of field*). Vengono infatti utilizzati i modelli FOCUS per calcolare le concentrazioni giornaliere dei diversi componenti della miscela nelle acque superficiali, e i modelli di additività delle concentrazioni per calcolare la potenziale tossicità delle miscele di pesticidi proveniente da una coltura agraria. In questo articolo è descritto MIX-TOOL e le metodologie che ne sono alla base. Inoltre, viene riportato l'applicazione del tool a due casi di studio (mais e melo), rappresentativi degli scenari agricoli italiani per le colture annuali e perenni. Al fine di verificare la sua validità, i risultati sono stati anche confrontati con i dati di monitoraggio (anni 2015-2017) di alcuni corpi idrici superficiali della regione Lombardia, dove le due colture sono ampiamente diffuse. MIX-TOOL è scaricabile da un articolo recentemente pubblicato e, su richiesta, viene fornito lo *user manual*.

SUMMARY

Current European regulation on the authorization of plant protection products (PPPs) is limited to the evaluation of ecological risks for the single active substances they contain. However, agricultural plant protection treatments consist often in PPPs that contain more than one active substance and each cropped field receives multiple applications per year, leading to complex pesticide mixtures in the environment. Different transport processes resulting in a multitude of heterogeneous and potentially toxic substances that, for example, may reach water bodies and act simultaneously on natural freshwater ecosystems. In this context, the development of tools to manage pesticide mixture risks is imperative to improve the current ecological risk assessment, avoiding further deterioration of ecological quality of natural resources. This work arises from the research activities carried out by IRSA-CNR in collaboration with Milano-Bicocca University in the framework of the Agreement with the Ministry of the Environment "Evaluation of the Combined Effects of Mixtures of Substances", with the further development of a new Microsoft-Excel-based tool (MIX-TOOL) for identifying pesticide mixtures of potential concern released from agricultural crops in surface water. The approach follows the EU regulatory context for the authorization of PPPs in the market and requires the use of FOCUS models for calculating the concentrations in surface water of mixture components on a daily basis. Moreover, it uses concentration addition models to calculate the toxic potency of the pesticide mixtures released by a crop. We also considered two case studies (maize and apple tree), representative of Italian agricultural scenarios for annual and perennial crops. Moreover, the results were compared with 3 years of monitoring data of surface water bodies of the Lombardy region (northern Italy) where the two crops are largely present. MIX-TOOL is freely downloaded from a recent paper and the user Manual could be provided on request by authors.

* antonio.finizio@unimib.it

1. INTRODUZIONE

Il territorio europeo è fortemente caratterizzato da una presenza diffusa di attività agricole e zootecniche (EUROSTAT, 2020) che comporta l'utilizzo di diversi prodotti chimici (ad es. prodotti fitosanitari, fertilizzanti e farmaci veterinari), in grado di contaminare l'ambiente e di generare un rischio per gli ecosistemi a diverse scale spazio/temporali. Ad esempio, i prodotti fitosanitari possono rappresentare un rischio per gli organismi acquatici su scala locale se raggiungono i corpi idrici nelle vicinanze di colture trattate (Schwarzenbach et al., 2006; Hartz et al., 2017; Schulz, 2004). Inoltre, il loro trasporto attraverso l'aria e l'acqua può portare ad una contaminazione su scala di bacino (Bonzini et al., 2006; Rabiet et al., 2009; Ccancapa et al., 2016; Morselli et al., 2018; Deknock et al., 2019) o addirittura su scala globale, attraverso fenomeni di *long range atmospheric transport* (Daly e Wania, 2005; Rizzi et al., 2019). Nel corso dei decenni, la presenza crescente di prodotti fitosanitari nell'ambiente (Finizio et al., 2011; Malaj et al., 2014; Schreiner et al., 2016; Chow et al., 2020; Le Cor et al., 2021) ha suscitato la preoccupazione dei cittadini, degli scienziati e delle amministrazioni. Per questo motivo, l'uso dei prodotti fitosanitari viene regolato da norme stringenti, almeno nella maggior parte dei Paesi sviluppati. Prima di essere autorizzati, infatti, sono sottoposti a procedure standardizzate di valutazione del rischio per la salute umana e per l'ambiente. Per quanto riguarda l'analisi di rischio ecologico, nelle procedure di autorizzazione all'uso dei prodotti fitosanitari, l'Unione Europea ha adottato un approccio *Tier-based* a partire da uno scenario di caso peggiore (*worst case approach*) (EC, 2009).

Ad esempio, per gli organismi acquatici, il rischio è calcolato in piccoli corpi idrici a bordo campo (approccio *hedge of field*), con un potenziale di diluizione limitato, considerato come uno scenario realistico di caso peggiore (EFSA, 2013). La caratterizzazione del rischio si basa sul calcolo del rapporto tossicità/esposizione, che si ottiene dividendo la concentrazione prevista in un determinato comparto ambientale (PEC: *Predicted Environmental Concentration*) con una concentrazione di non effetto (RAC: *Regulatory Acceptable Concentration, concentrazione soglia al di sotto della quale non si attendono effetti avversi*) derivato dai saggi ecotossicologici (EC, 2009; EFSA 2013). La PEC viene stimata utilizzando dei modelli previsionali di destino ambientale, proposti dal gruppo FOCUS (*Forum for the Co-ordination of pesticide fate models and their Use*; FOCUS, 2001). In particolare, nei vari *Tier*, sono utilizzati diversi modelli con complessità e realismo ecologico crescenti. In particolare, lo step 3 prevede l'applicazione di modelli predittivi a dieci scenari ambientali (FOCUS, 2001).

Come accennato in precedenza, l'uso di diversi prodotti fitosanitari durante la stagione di crescita di una coltura può portare alla formazione nei corpi idrici (a bordo campo) di miscele molto variabili nel numero di componenti e nelle loro relative concentrazioni (de Zwart, 2005; Finizio et al., 2005; Belden et al., 2007). Questa elevata variabilità dipende sia dalle scelte degli operatori agricoli nella selezione dei prodotti fitosanitari sia dalle condizioni ambientali, che posso-

no favorire l'insorgenza di parassiti o influenzare il destino ambientale dei prodotti fitosanitari (dilavamento, degradazione e volatilizzazione).

Il problema viene aggravato se si considera la scala di bacino, dove sono presenti contemporaneamente diverse colture. La presenza contemporanea di queste sostanze nelle acque superficiali è stata evidenziata in numerosi studi (Junghans et al., 2005; Relyea, 2008; Moschet et al., 2014; Curchod et al., 2020; Gustavsson et al., 2017; Schreiner et al., 2016; Finizio et al., 2022a) e questo desta preoccupazione anche alla luce dell'obiettivo del raggiungimento di un buon stato ecologico dei corpi idrici europei, come richiesto dalla Direttiva Quadro sulle Acque dell'UE (EC, 2000) (Vighi et al., 2003; SCHER SCENIHR SCCS, 2012; OECD, 2018; Posthuma et al., 2018; EFSA, 2019). È possibile, infatti, che la tossicità delle miscele per gli organismi acquatici possa superare quella prodotta separatamente dai singoli composti (SCHER SCENIHR SCCS, 2012), con una sottostima del rischio per gli ecosistemi acquatici.

La tossicità di una miscela può essere stimata utilizzando due diversi modelli: *Concentration Addition* (CA) e *Independent Action* (IA). Il primo si basa sull'ipotesi che tutte le sostanze della miscela in esame presentino un meccanismo d'azione simile o che abbiano lo stesso *target* negli organismi (Altenburger et al., 2000), mentre il secondo considera che i componenti della miscela agiscano su *target* differenti nello stesso organismo (Backhaus et al., 2000). In generale, il modello CA viene considerato come un caso peggiore e conservativo, alla luce della considerazione che la tossicità della miscela calcolata con questo modello è generalmente superiore a quella ottenuta con il modello IA. Per questo motivo, il modello CA è maggiormente utilizzato, soprattutto quando non sono disponibili informazioni sul meccanismo d'azione dei costituenti della miscela (SCHER SCENIHR SCCS, 2012).

In letteratura, sono presenti diversi studi che hanno come obiettivo l'identificazione e la tossicità di miscele di pesticidi utilizzando dati di monitoraggio disponibili (Petersen et al., 2012; Schreiner et al., 2016; Gustavsson et al., 2017; Bundschuh et al., 2014; Finizio et al., 2022a,b). Pochissimi sono gli studi che si sono focalizzati sulla valutazione della composizione e della tossicità di miscele che possono derivare da una singola coltura (approccio *edge-of-field*). Recentemente (Finizio et al., 2022a) è stato pubblicato un articolo che riporta una metodologia per valutare il rischio ecologico delle miscele chimiche nei corpi idrici. Essa si basa sull'analisi dei dati di monitoraggio chimico di routine acquisiti da ISPRA. I dati delle concentrazioni ambientali misurati per le campagne di campionamento annuali delle stazioni di monitoraggio sono stati prima georeferenziati in un unico sistema di coordinate. La tossicità complessiva della miscela è stata poi valutata per tre organismi rappresentativi dell'ecosistema acquatico, su tre livelli trofici (alghe, dafnie, pesci) utilizzando il modello di addizione delle concentrazioni per combinare l'esposizione con i dati ecotossicologici (provenienti da diverse banche dati). È stato utilizzato un sistema di gestione di database per facilitare la creazione, l'organizzazione e la gestio-

ne degli ampi set di dati di questo studio. I risultati sono stati espressi sia come mappe di rischio delle miscele sia come tabelle basate su GIS (che elencano le unità di tossicità delle miscele e delle singole sostanze) utili per ulteriori analisi. La metodologia è stata applicata a un bacino idrografico italiano (fiume Adda) come caso di studio. Nella prima fase, la tossicità della miscela è stata calcolata utilizzando due scenari: il migliore e il peggiore; il primo include solo i composti che sono stati rilevati, mentre il secondo include anche le sostanze con concentrazioni inferiori al limite di quantificazione. Il confronto tra i due scenari (espresso come rapporto tra i valori ottenuti tra lo scenario migliore e quello peggiore) indica l'intervallo entro il quale la tossicità della miscela dovrebbe idealmente variare. La metodologia dimostra che questi rapporti erano molto piccoli quando la tossicità calcolata utilizzando il caso migliore indicava un rischio potenziale e viceversa, indicando che lo scenario peggiore non poteva essere appropriato (estremamente conservativo). Di conseguenza, nella fase successiva, ci siamo concentrati esclusivamente sullo scenario migliore. Infine, questo approccio ha permesso di identificare le miscele prioritarie (quelle più probabilmente presenti nei campioni d'acqua analizzati); inoltre è stato dimostrato che le alghe sono gli organismi a maggior rischio e sono state identificate le sostanze che hanno contribuito maggiormente alla tossicità complessiva della miscela (nel caso specifico terbutilazina e s-metolaclo per le alghe e clorpirifos e clorpirifos-CH₃ per dafnia e pesci). I dettagli di tale lavoro, che nasce dalle attività IRSA-CNR e Università degli Studi di Milano-Bicocca nell'ambito dell'Accordo di collaborazione con il Ministero dell'Ambiente "Valutazione degli effetti combinati delle miscele di sostanze", è stato anche recentemente pubblicato nel numero speciale dedicato alle miscele di sostanze chimiche nell'Ambiente del Notiziario dei Metodi Analitici & IRSA News⁽¹⁾.

Nel 2005, Finizio e coautori (Finizio et al., 2005) avevano proposto una metodologia per identificare le miscele di pesticidi potenzialmente preoccupanti associate a singole colture. L'approccio si basava sull'integrazione del modello SoilFug (Di Guardo et al., 1994) per il calcolo della PEC, dei dati ecotossicologici e del modello CA. Tuttavia, il modello SoilFug era stato applicato in uno scenario ambientale molto generico. Nel presente studio, partendo dall'approccio precedentemente proposto nel 2005, si compie un passo avanti e si suggerisce di utilizzare i modelli FOCUS (fasi 3 e 4) per il calcolo delle PEC. I vantaggi del nuovo strumento proposto sono molteplici:

- i) ci si muove in un contesto normativo (i modelli FOCUS sono utilizzati per l'autorizzazione dei prodotti fitosanitari);
- ii) gli scenari ambientali non sono generici, ma ben definiti dal gruppo FOCUS (*Forum for Co-ordination of pesticide fate models and their Use*);
- iii) l'applicazione dei modelli FOCUS consente una valutazione *hedged of field* per la coltura conside-

rata. Questo permette di calcolare l'emissione giornaliera di miscele di prodotti fitosanitari lungo tutto il ciclo stagionale e in base alle scelte di trattamento; di conseguenza, è possibile identificare in modo più appropriato le miscele di pesticidi che hanno una maggiore probabilità di formazione e potenzialmente più preoccupanti dal punto di vista della tossicità.

Il Tool sviluppato (MIX-TOOL) è basato sul programma Microsoft-Excel, che è stato recentemente pubblicato nell'articolo (in *open access*) di Finizio et al. (2022b) "Mix-Tool: An Edge-of-Field Approach to Predict Pesticide Mixtures of Concern in Surface Water From Agricultural Crops". Il tool è scaricabile dai Materiali supplementari dell'articolo stesso⁽²⁾.

Inoltre, lo *user manual* viene tranquillamente fornito, su richiesta, dagli autori di questo articolo.

Il tool consente di combinare temporalmente i risultati ottenuti da tutte le applicazioni dei modelli FOCUS (un'esecuzione per ogni potenziale prodotto fitosanitario registrato per una particolare coltura). Per testare il nuovo tool, la procedura è stata applicata a due casi di studio (mais e melo), rappresentativi del contesto agricolo italiano. Inoltre, sono stati confrontati i risultati ottenuti con i dati di monitoraggio disponibili sui corpi idrici superficiali della regione Lombardia, dove le due colture sono ampiamente presenti. In questo articolo riportiamo i risultati ottenuti, con l'obiettivo di descrivere l'approccio e di evidenziarne le potenzialità.

2. MATERIALI E METODI

2.1 Considerazioni generali sull'approccio metodologico

In Figura 1 è riportato un diagramma di flusso del metodo proposto.

L'approccio inizia con l'identificazione delle sostanze attive (s.a.) autorizzate su una specifica coltura e delle relative opzioni di applicazione (GAP: *Good Agricultural*

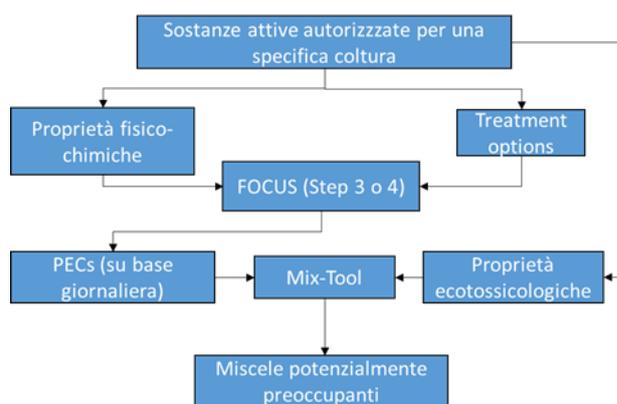


Figura 1. Diagramma di flusso della procedura per identificare le miscele di pesticidi che destano preoccupazione rilasciate nelle acque superficiali da una determinata coltura. FOCUS = *Forum for the Co-ordination of pesticide fate models and their Use*; PECs = *predicted environmental concentrations*

(1) https://www.irsna.cnr.it/wp/wp-content/uploads/2022/04/notiz2022_1.pdf

(2) <https://drive.google.com/file/d/1sbPCN-PSYh8qlaYL3Jm38Iz5Aowh3VE/view>

tural Practices). Vengono poi raccolti i dati sulle loro proprietà fisico-chimiche ed eco-tossicologiche. Le proprietà fisico-chimiche e le opzioni di applicazione vengono utilizzate per calcolare le PEC nelle acque superficiali, attraverso l'utilizzo dei modelli FOCUS (step 3 e 4). Infine, le PEC (calcolate su base giornaliera) e i dati ecotossicologici sono utilizzati come input del MIX-TOOL per identificare le miscele di pesticidi potenzialmente problematiche.

2.1.1 Proprietà fisico-chimiche ed ecotossicologiche dei pesticidi selezionati e relative alternative di trattamento

Come già accennato, il procedimento inizia con l'identificazione delle sostanze attive (s.a.) autorizzate all'uso sulle colture selezionate. Come casi di studio, sono state prese in considerazione le colture di mais e melo, ampiamente coltivate in Italia e in particolare nelle sue aree agricole più intensive della Lombardia (Italia settentrionale). Tramite la consultazione della banca dati italiana sui pesticidi (SIAN, 2022) è stato redatto un elenco di dieci s.a. per ciascuna coltura tra quelle più utilizzate e registrate per queste colture in Italia nel 2018. L'elenco finale non comprende le sostanze inorganiche, poiché i modelli FOCUS non sono completamente validati per questo tipo di sostanze. Inoltre, sono stati esclusi anche tutti i prodotti eliminati dal commercio prima del 2018, al fine di ottenere una panoramica realistica sulle sostanze utilizzate più di recente.

In Tabella 1 sono elencate le sostanze selezionate per le due colture prese in esame in questo studio.

Per definire gli scenari di applicazione (dosaggio, nu-

Tabella 1. Dieci tra i pesticidi più applicati su mais e melo in Lombardia. S.a.: sostanza attiva Fung: fungicida; Ins.: insetticida; Erb.: erbicida

S.a.	Abbreviazione	Classificaz.	Coltura	
			Mais	Melo
Bentazone	Bent	Fung.	X	-
Captan	Cap	Fung.	-	X
Chlorpyrifos	Chlor	Ins.	X	X
Chlorpyrifos-CH ₃	Chlor-met	Ins.	X	-
Dicamba	Dica	Ins.	X	-
Ditianon	Dith	Ins.	-	X
Fosetyl-aluminium	Fos-Al	Fung.	-	X
Glyphosate	Gly	Erb.	X	X
Mancozeb	Manc	Fung.	-	X
MCPA	MCPA	Erb.	X	X
Mesotrione	Meso	Erb.	X	-
Metiram	Meti	Fung.	-	X
Pendimethalin	Pend	Erbicida	X	X
S-metolachlor	s-Meto	Erb.	X	-
Tebuconazole	Tebu	Fung.	-	X
Terbutylazine	Terb	Erb.	X	-

mero di trattamenti e date di applicazione), è stato utilizzato il database Pestidoc (ICPS, 2021) in modo da ricavare i dati dalle etichette di almeno 10 prodotti fitosanitari contenenti le sostanze attive selezionate nonché selezionare l'applicazione con il maggior dosaggio (rata di applicazione), che è considerato il caso peggiore. I dati di applicazione selezionati sono riportati in Tabella 2.

2.1.2 Calcolo delle PEC nelle acque superficiali

La seconda fase dell'approccio proposto consiste nel calcolo delle PEC nelle acque superficiali utilizzando i modelli proposti dal gruppo FOCUS, utilizzando gli scenari di applicazione precedentemente identificati.

Le proprietà fisico-chimiche e la degradabilità (espressa come DT₅₀) sono (insieme alla dose di applicazione) gli input necessari ai modelli FOCUS per calcolare le PEC nelle acque superficiali. In questo studio, i dati sono stati ricavati dai Report dell'EFSA. La Tabella 3 riporta i dati scelti con i relativi riferimenti bibliografici.

Per il calcolo delle PEC nelle acque superficiali, le linee guida FOCUS suggeriscono un approccio in quattro fasi con un livello di realistica crescente (FOCUS, 2001). Nel presente lavoro, le PEC sono state calcolate utilizzando lo Step 3 proposto dal gruppo FOCUS e, se necessario, il software SWAN 5.0, per il *refinement* delle PEC, considerando le misure di mitigazione del rischio (FOCUS Step 4). Per l'applicazione dei modelli predittivi secondo lo Step 3, il gruppo di lavoro FOCUS ha identificato dieci scenari ambientali realistici del caso peggiore, sei dei quali rappresentano scenari di drenaggio (D1-D6) e quattro scenari di *run-off* (scorrimento superficiale) (R1-R4). Gli scenari sono stati sviluppati tenendo conto delle informazioni agronomiche, delle condizioni climatiche relative alle diverse colture e di una serie di corpi idrici tipici dell'area di studio. In questo studio, sono stati considerati solo gli scenari rilevanti per il contesto italiano (D4, D6, R3 e R4).

Sono stati utilizzati i seguenti software, suggeriti dalle linee guida dell'UE (ESDAC, 2021):

- **FOCUS SWASH** (versione 5.3): è una *shell* (pannello di controllo) di facile utilizzo, utilizzata per inserire tutti i dati necessari per i calcoli STEP3, come le proprietà fisico-chimiche, i tassi di degradazione e le date di applicazione. In questo studio le date di applicazione sono state stimate in base all'indice BBCH (*Biologische Bundesanstalt, Bundessortenamt and CHEMICAL industry*, Meier, 2001) e utilizzando lo strumento AppDate (Klein, 2012). A seconda dell'indice BBCH al momento della distribuzione, il metodo di applicazione variava tra l'incorporazione diretta al suolo o la distribuzione fogliare;
- **FOCUS_MACRO** (versione 5.5.4): questo modello è stato utilizzato per simulare i carichi di drenaggio dei pesticidi verso le acque superficiali; è il modello maggiormente utilizzato per suoli altamente strutturati, quali quelli italiani, poiché simula anche i flussi idrici preferenziali nei macro-pori;

Tabella 2. Scenari di applicazione dei pesticidi per le colture di melo e mais (RA = dose di applicazione (g/ha); BBCH = Biologische Bundesanstalt, Bundessortenamt and Chemical industry; è l'indice (espresso come 'numero a due cifre) che codifica uniformemente lo stadio di crescita fenologico della coltura; RMM = Risk. Management. Measures, misure di mitigazione del rischio in etichetta; NTBZ: Not Treated Buffer Zone, zona cuscinetto non trattata; DRN: Drift Reduction Nozzle, ugello di riduzione della deriva)

Sostanza	Melo				Mais			
	N. trattam. (n. gg tra due trattam.)	RA (g/ha)	BBCH	RMM	N. trattam. (n. gg tra due trattam.)	RA	BBCH	RMM
Bentazone	Non registrata per questa coltura				1	1488	13-16	
Captan	10 (7gg)	1440	15-80	20 m NTBZ	Non registrata per questa coltura			
Clorpirifos-CH ₃	Non registrata per questa coltura				1	900	16	20m NTBZ
Clorpirifos	1	792	50-60	20m NTBZ + 50% DRN	1	3000	30	5m NTBZ + 90% DRN
Dicamba	Non registrata per questa coltura				1	360	12-18	
Dithianon	6 (7gg)	525	57-73	20m NTBZ	Non registrata per questa coltura			
Fosetyl-Aluminium	2 (7gg)	3000	67-80	-	Non registrata per questa coltura			
Glifosate	1	4320	0-9	-	1	2880	09	
Mancozeb	4 (7gg)	1500	9-20	80% DRN	Non registrata per questa coltura			
MCPA	2 (6gg)	1380	0-15	-	1	800	14-16	5m NTBZ
Mesotrione	Non registrata per questa coltura				1	150	12-13	20m NTBZ
Metiram	3 (7gg)	1820	13-30	30m NTBZ	Non registrata per questa coltura			
Pendimetalin	1	1320	0-70	10m NTBZ + 25% DRN	1	1765	0-9	20m NTBZ + 25% DRN
S-Metolachlor	Non registrata per questa coltura				1	1440	0-14	5m NTBZ
Tebuconazole	4 (6gg)	225	10-75	5m NTBZ	Non registrata per questa coltura			
Terbutilazina	Non registrata per questa coltura				1	850	0-13	20m NTBZ

Tabella 3. Proprietà fisico-chimiche dei pesticidi selezionati. MW: peso molecolare; 1/n: pendenza dell'isoterma di adsorbimento di Freundlich (costante di adsorbimento)

Sostanza	MW (g/mol)	Solubilità in acqua (mg/L)	Pressione di vapore (mm Hg)	DT _{50 t} (giorni)	DT _{50 water} (giorni)	DT _{50 sediment} (giorni)	Koc (L/kg)	1/n	Uptake della pianta	Rif.
Bentazone	240,3	570	4,9×10 ⁻⁴	7,5	242	242	30,2	0,97	0	1
Captan	300,59	5,2	4,2×10 ⁻⁶	3,8	1	1000	76,8	0,9	0	2
Chlorpyrifos-CH ₃	322,6	2,74	0,003 (25 °C)	12	1000	14	1462	0,96	0	3
Chlorpyrifos	350,5	1,05	1,43×10 ⁻³	34,6	1000	29,93	3572	0,916	0	2
Dicamba	221	6600	1,67×10 ⁻³	3	41	1000	5,1	0,78	0	4
Dithianon	296,3	0,3754	2,71 ×10 ⁻⁹	10,5	0,505	1000	3627	0,9	0	5
Fosetyl-Aluminium	354,14	110000	1×10 ⁻⁷ (25 °C)	0,1	3	1000	0,1	1	0	6
Glyphosate	169,1	10500	1,31×10 ⁻⁵ (25 °C)	20,5	1000	67,74	1584	0,91	0	1
Mancozeb	271,3	2-20	1,33×10 ⁻⁵	0,08	0,21	1000	771	0,741	0	2
MCPA	200,62	29390	0,4	24	17	1000	74	0,68	0	7
Mesotrione	339	160	1,0×10 ⁻¹⁰	14,2	5,5	5,6	52,2	0,94	0	8
Metiram	1088,6	<2	<0,00001	1	2,2	1000	1000	1	0	9
Pendimethalin	281,3	0,33	3×10 ⁻⁴	129,9	1000	31,8	1379	0,966	0	8
S-Metolachlor	283,8	480	0	31,7	1000	1000	199	0,93	0	8
Tebuconazole	307,8	36	1,3×10 ⁻⁶	39,9	54,4	1000	769	0,85	0	10
Terbutylazine	229,7	8,5	0	19,4	1000	69,9	151	0,93	0	4

Rif: 1: EFSA Journal 2015;13(11):4302; 2: List of Endpoints 2017 (<https://www.efsa.europa.eu/en/consultations/call/180417>); 3: SANCO/3061/99 – rev. 2; 4: EFSA Journal 2011;9(1):1965; 5: EFSA Journal 2010;8(11):1904; 6: EFSA Journal 2018;16(6):5307; 7: PPDB; 8: EFSA Journal 2016;14(3):4419; 9: List of Endpoints 2018; 10: List of Endpoints 2010

- **FOCUS_PRZM_SW** (versione 4.3.1): questo modello è utilizzato per simulare i carichi da scorrimento superficiale dei pesticidi verso le acque superficiali;
- **FOCUS_TOXSWA** (versione 5.5.3): è utilizzato per gestire i dati di output di MACRO e PRZM e per valutare il destino ambientale dei pesticidi all'interno del corpo idrico a bordo del campo, considerando la degradazione e la ripartizione nei sedimenti;
- **SWAN** (versione 5.0): è uno strumento per incorporare gli effetti delle misure di mitigazione nei calcoli delle PEC.

Tabella 4. Dati ecotossicologici dei pesticidi selezionati

Sostanza	EC ₅₀ Algae (mg/L)	EC ₅₀ Daphnia (mg/L)	EC ₅₀ Pesci (mg/L)	Riferimento
bentazone	10,1	100	100	EFSA Journal 2015;13(4):4077
captan	0,66	1,007	0,0147	List of Endpoints 2017
chlorpyrifos-CH ₃	0,57	0,0006	0,41	SANCO/3061/99 - rev. 2
chlorpyrifos	0,47	0,0001	0,025	List of Endpoints 2017
dicamba	1,8	41	100	EFSA Journal 2011;9(1):1965
dithianon	0,064	0,26	0,0194	EFSA Journal 2010;8(11):1904
fosetyl-aluminium	9,54	100	100	EFSA Journal 2018;16(6):5307
glyphosate	8,5	40	38	EFSA Journal 2015;13(11):4302
mancozeb	0,0322	0,0112	0,56232	List of Endpoints 2017
MCPA	32,9	190	50	SANCO/4062/2001-final
mesotrione	3,5	622	120	EFSA Journal 2016;14(3):4419
metiram	0,007	0,584	0,336	List of Endpoints 2018
pendimethalin	0,0038	0,147	0,196	EFSA Journal 2016;14(3):4420
s-metolachlor	0,056	1,4	1,23	List of Endpoints 2018
tebuconazole	1,96	2,79	4,4	List of Endpoints 2010
terbuthylazine	0,012	0,19	2,2	EFSA Journal 2011; 9(1):1969

L'impostazione predefinita dei modelli FOCUS prevede solo la concentrazione massima nelle acque superficiali (PEC_{sw}) e le successive concentrazioni in alcuni intervalli di tempo predeterminati dopo il raggiungimento della PEC_{sw} massima. Tuttavia, poiché il nostro approccio richiede concentrazioni giornaliere di pesticidi durante l'anno, abbiamo selezionato l'opzione di output dettagliata di TOXWA, che fornisce la serie completa di dati PEC su base oraria nel corpo idrico superficiale.

2.1.3 MIX-TOOL: miscele di pesticidi rilasciate dalle colture (valutazione "hedge of field")

La terza fase dell'approccio proposto prevede l'identificazione delle miscele di pesticidi nelle acque superficiali durante l'anno, in riferimento a una determinata coltura e seguendo il calendario dei trattamenti. È stato creato un semplice strumento basato sul programma Microsoft-Excel (MIX-TOOL⁽³⁾), che gestisce i dati generati dai modelli FOCUS durante la fase precedente. Un primo foglio è stato preparato per ospitare i dati di output dei modelli FOCUS (copiando semplicemente il file di testo di output da TOXWA e incollandolo nel foglio xls). Successivamente, lo strumento seleziona automaticamente il valore massimo di PEC ottenuto per ogni s.a. durante le 24 ore (come precedentemente indicato, nei modelli FOCUS le PEC sono espresse su scala oraria). Di conseguenza, per ogni giorno dell'anno, è possibile ottenere la composizione della miscela in termini di concentrazioni, semplicemente elencando i risultati delle concentrazioni giornaliere di ciascuna s.a. nelle colonne successive.

Inoltre, MIX-TOOL caratterizza le miscele anche in

(3) <https://drive.google.com/file/d/1sbPCN-PSYh8qlaYL3ljM38lz5Aowh3VE/view>

termini di tossicità, utilizzando il modello CA (Altenburger et al., 2000), che si basa sul principio che tutti i componenti della miscela si comportano come se fossero semplici diluizioni l'uno dell'altro. In particolare, questo modello considera che una data sostanza chimica possa essere sostituita da una concentrazione equivalente in termini di effetto (ad esempio, una EC₅₀) di un'altra sostanza chimica, senza modificare l'effetto totale su quel *target*. Secondo il modello CA, la tossicità complessiva di una miscela (TU_{mix}) può essere calcolata come segue:

$$TU_{mix} = \frac{C_{mix}}{ECx_{mix}} \sum_{i=1}^n \frac{C_i}{ECx_i} = \sum_{i=1}^n TU_i \quad [1]$$

dove: C_{mix} è la concentrazione totale dei componenti della miscela; ECx_{mix} è la concentrazione della miscela che produce una certa percentuale di effetto; C_i ed ECx_i, sono rispettivamente la concentrazione e l'effetto di una sostanza "i"; TU_i, è la frazione di unità di tossicità della sostanza "i".

TU_{mix} si ottiene sommando la tossicità di ciascun componente (C_i/ECx_i = TU_i).

Le alghe, le dafnie e i pesci sono stati identificati come organismi non bersaglio rappresentativi dei livelli trofici degli ecosistemi acquatici e la tossicità della miscela per questi organismi è stata calcolata utilizzando i valori EC₅₀ o LC₅₀ (Tabella 4).

Inoltre, sempre in un'ottica di caso peggiore, sono stati applicati dei fattori di incertezza (AF: Assessment Factor) alla tossicità delle miscele, calcolata secondo l'Eq. 1 (0,1 per le alghe e 0,01 per *Daphnia* e pesci). Questa procedura è in linea con la procedura di valutazione del rischio dei pesticidi (EFSA 2013).

2.2 Dati di monitoraggio

I dati di monitoraggio delle acque superficiali sono stati ottenuti dall'autorità ambientale regionale (ARPA Lombardia, 2022) per il periodo 2015-2017. Il set di dati di input per ciascun campione include l'identificativo della stazione di monitoraggio, le coordinate geografiche, la data e il nome del campione, le concentrazioni misurate e il limite di quantificazione di ciascuna sostanza campionata.

3. RISULTATI E DISCUSSIONE

Come riportato nella sezione "Materiali e metodi", abbiamo scelto il mais e il melo come casi di studio per sperimentare MIX-TOOL e per valutarne i risultati. Entrambe le colture sono ampiamente rappresentative dello scenario agricolo italiano, occupando una superficie agricola utilizzata (SAU) di 588.597 Ha per il mais e 114.050 Ha per il melo (ISTAT, 2022)..

3.1 Andamento annuale della tossicità delle miscele emesse da mais e melo e confronto tra gli scenari

Le Figure 2 e 3 mostrano l'andamento annuale (in scala logaritmica) dei valori delle unità di tossicità rapportate al fattore di attenuazione (TU/AF) delle miscele rilasciate da un ettaro di mais o di melo durante l'anno (valutazione a bordo campo). Valori di $\log TU/AF > 0$ indicano che viene superata la soglia di rischio.

Rispetto agli scenari di *run-off* (R3 e R4), gli scenari di drenaggio (D4 e D6) mostrano una minore frequenza e intensità di rischio per gli organismi acquatici per entrambe le colture considerate. In particolare, la soglia di rischio per il mais viene lievemente superata solo nei mesi di aprile e maggio/luglio, rispettivamente per le alghe e i pesci, mentre per la Daphnia il rischio potenziale è riscontrabile nel mese di maggio e talora in inverno (probabilmente a causa dei picchi di precipitazioni invernali che possono trasportare alcuni residui nelle acque superficiali, come si evince dalla Figura 2 A, B, C). Un quadro simile si osserva per le miscele provenienti dalle applicazioni su melo (Figura 3 A, B, C). Infatti, per i tre organismi acquatici, la soglia di rischio viene sporadicamente superata nel periodo aprile-luglio (per la Daphnia anche nel periodo novembre-dicembre) per quanto riguarda il drenaggio. Al contrario, negli scenari di *run-off* i superamenti sono molto frequenti durante tutto l'anno per entrambe le colture (Figure 2 e 3 E, F, G).

La tossicità delle potenziali miscele rilasciate dalle due colture qui considerate varia notevolmente nel corso dell'anno per i diversi organismi acquatici e per gli scenari considerati. I valori di tossicità più elevati per gli organismi algali si ottengono con lo scenario R4, in particolare nella seconda metà di aprile, con un intervallo TU/AF di 16-42 e 9,3-92 rispettivamente per mais e melo, e nei mesi di maggio e giugno, con un intervallo TU/AF di 5-8 e 6-12 rispettivamente per mais e melo (Figure 2D e 3D). Inoltre, la Daphnia sembra essere l'organismo più a rischio in tutti gli scenari ambientali. Infatti, la soglia di rischio viene spesso superata durante l'anno: i valori TU/AF > 1 per

il mais sono stati riscontrati 118 e 129 volte in R3 e R4 e 27 e 46 volte per il melo, con alcuni valori nei mesi tra maggio e luglio che superano la soglia di rischio di 3-4 ordini di grandezza, in particolare per il mais. Infine, per quanto riguarda i pesci, lo scenario R4 è quello più a rischio, soprattutto nei mesi di aprile-maggio; infatti i valori TU/AF > 1 sono stati riscontrati 29 e 27 volte durante l'anno rispettivamente per il mais e il melo.

Dai risultati ottenuti, si evince che le potenziali miscele, derivanti dall'applicazione di una selezione di pesticidi registrati per il mais e il melo, possano rappresentare un problema ambientale in particolare in quelle aree agricole italiane paragonabili agli scenari R3 e R4 delle linee guida FOCUS per le acque superficiali.

3.2 Miscele a cui prestare attenzione

La Tabella 2 e la Tabella 5 elencano i componenti delle miscele che presentano valori di TU superiori a 1 (miscele ad alto rischio per le acque superficiali) per ogni organismo acquatico considerato, per ogni scenario FOCUS e in diversi periodi dell'anno. Viene inoltre riportato il contributo relativo (in percentuale) di ciascuna sostanza attiva alla tossicità complessiva della miscela. I dati sono raggruppati in diversi periodi di tempo considerando l'omogeneità nella composizione delle miscele e il contributo dei componenti alla tossicità della miscela.

Analizzando questi dati, possiamo sottolineare che il numero di componenti e il loro contributo relativo alla tossicità della miscela variano durante l'anno per entrambe le colture. Tuttavia la tossicità può essere spesso attribuita a un solo composto (o a pochissimi), come riportato in studi precedenti che evidenziano come pochi composti guidino solitamente la tossicità delle miscele (Gustavsson et al., 2017; Rydh Stenström et al., 2021). Infine, questa considerazione consente di comprendere meglio i risultati riportati nelle Figure 2 e 3, in particolare per gli scenari R3 e R4, dove la tendenza a superare la soglia di rischio è molto elevata. Infatti, nella maggior parte dei casi, il rischio è dovuto al rilascio di un solo residuo di sostanza attiva

Nelle sezioni seguenti, analizziamo in modo approfondito ogni caso di studio.

3.2.1 Mais

Dalla Figura 2 e dalla Tabella 2 si evincono le seguenti considerazioni:

Alghie: Negli scenari di drenaggio (D4 e D6) le miscele che destano preoccupazione sono rilasciate esclusivamente nel mese di aprile (Figura 1A e Tabella 2) e sono composte dai tre erbicidi Terbutylazine, S-metolachlor e Pendimethalin (Terb, s-Meto e Pend), ognuno dei quali fornisce in entrambi gli scenari un contributo simile alla tossicità. Negli scenari di *run-off* (R3 e R4) il flusso delle miscele è più diffuso durante l'anno (Figura 2D e Tabella 2). Tuttavia, si può osservare che tutte le miscele interessate sono composte quasi esclusivamente dall'erbicida Pend (la percen-

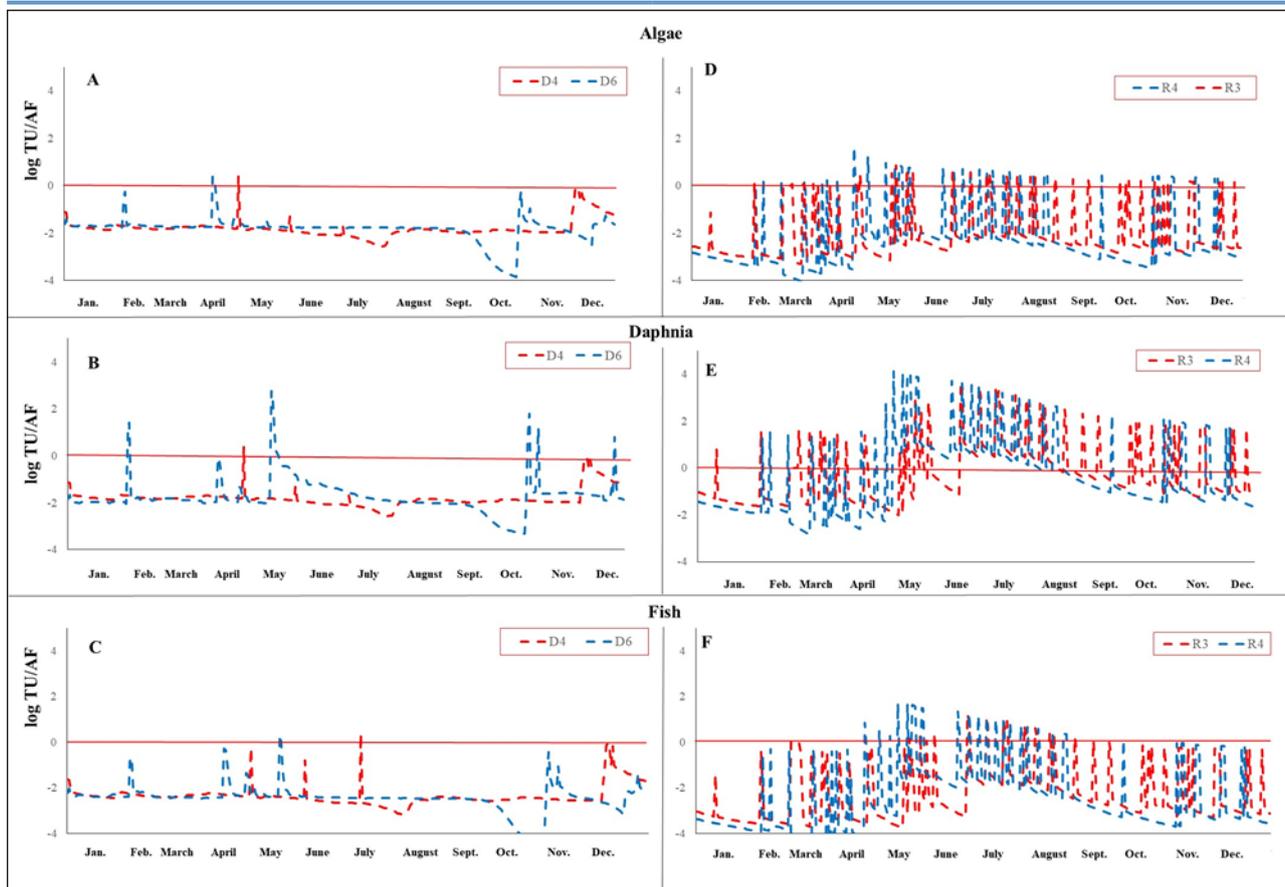


Figura 2. Andamento annuale della potenziale tossicità della miscela rilasciata da un ettaro di coltura di mais in relazione a diversi scenari dei modelli FOCUS (D4-D6: scenari di drenaggio; R3-R4: scenari di run-off). FOCUS = *Forum for the Co-ordination of pesticide fate models and their Use*. La tossicità potenziale (log TU/AF) viene espressa in scala logaritmica come rapporto tra la TU (tossicità della miscela) e il fattore di sicurezza (AF: *assessment factor*; AF considerato per le alghe: 0,1; AF per Daphnia e pesci: 0,01). Alghe: Figure A e D; Daphnia: Figure B e E; pesci: Figure C e F

tuale di contributo alla tossicità delle miscele varia dal 76% al 100%), ad eccezione del periodo compreso tra aprile e fine maggio, in cui la composizione delle miscele è simile a quella osservata per gli scenari D4-D6 (Terb, s-Meto e Pend). Questi erbicidi vengono applicati sul mais in pre- o post-emergenza (aprile/maggio). Tuttavia, Terb e s-Meto sono relativamente mobili nel terreno, con un'emivita nel suolo (DT_{50suolo}) di circa 25 giorni. Al contrario, il Pend mostra una maggiore affinità per il suolo (Koc > 15.000 mL/g) e un DT_{50suolo} superiore a 100 giorni. Queste differenze potrebbero spiegare la presenza nella miscela di Terb e s-Meto esclusivamente durante il periodo di trattamento e la presenza di Pend durante tutto l'anno.

Daphnia e pesci: In tutti gli scenari FOCUS, quasi solamente due insetticidi organofosforici Chlorpyrifos o Chlorpyrifos-CH₃ (Chlor, Chlor-met) formano delle miscele potenzialmente preoccupanti. Le uniche eccezioni sono evidenti in aprile, dove le miscele sembrano essere caratterizzate anche dalla presenza di alcuni erbicidi (ad esempio, nello scenario R3 per la Daphnia, durante l'evento di pioggia del 22 aprile la miscela era composta da Chlor, Terb, s-Meto e Pend).

3.2.2 Meleti

Dalla Figura 3 e dalla Tabella 2 emergono le seguenti considerazioni:

Alghe: Con poche eccezioni, in tutti gli scenari considerati la tossicità delle miscele è guidata da un solo composto, in particolare dall'erbicida Pendimethalin (Pend) e dai fungicidi Mancozeb (Manc) e Metiram (Meti). Negli scenari R3 e R4, la potenza tossica delle miscele può dipendere da una combinazione di diversi composti (R3: 12 e 20-21 aprile; R4: 18-20 maggio).

Daphnia e pesci: In tutti gli scenari FOCUS considerati, la tossicità delle miscele per Daphnia e pesci dipende dalla presenza di un'unica sostanza attiva, e nello specifico: i fungicidi Mancozeb (Manc), Captan (Cap) e Dithianon (Dith) rispettivamente ad aprile, maggio e luglio, l'erbicida Pendimethalin (Pend) a fine aprile e l'insetticida Chlorpyrifos (Chlor) a maggio e dicembre. Infine, in entrambi gli scenari di run-off durante il mese di aprile (e talvolta in maggio) la tossicità delle miscele dipende dalla combinazione di due o più composti: Chlorpyrifos (Chlor), Pendimethalin (Pend), Captan (Cap) e Metiram (Meti).

3.3 Confronto con i dati di monitoraggio

Secondo Ippolito e Fait (2019), un fattore chiave nella selezione dei modelli predittivi per il destino ambientale dei pesticidi è l'identificazione della scala spazio-temporale più appropriata (appezzamento, bacino, intera regione o globale). Infatti, all'aumentare della scala spazio-temporale cresce la complessità delle

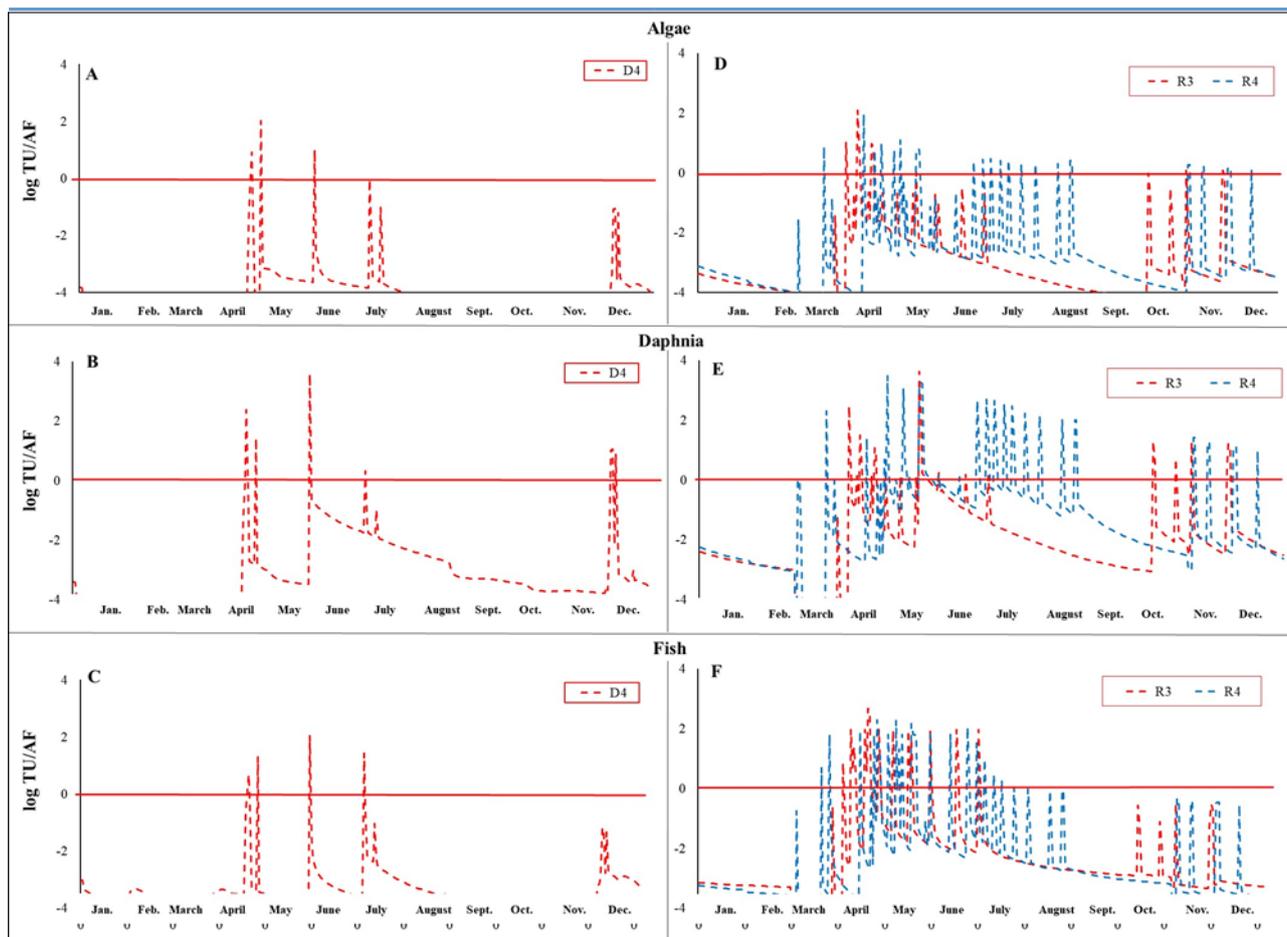


Figura 3. Andamento annuale della potenziale tossicità della miscela rilasciata da un ettaro di meli in relazione a diversi scenari dei modelli FOCUS (D4-D6: scenari di drenaggio; R3-R4: scenari di run-off). FOCUS = *Forum for the Co-ordination of pesticide fate models and their Use*. La tossicità potenziale (log TU/AF) viene espressa in scala logaritmica come rapporto tra la TU (tossicità della miscela) e il fattore di sicurezza (AF: *assessment factor*; AF considerato per le alghe: 0,1; AF per Daphnia e pesci: 0,01). Alghe: Figure A e D; Daphnia: Figure B e E; pesci: Figure C e F

variabili e dei processi dinamici da considerare (ad esempio: carichi ambientali, idrologia dei corpi idrici, degradazione, deposizione di sedimenti, risospensione e volatilizzazione). Nel contesto delle attuali procedure dell'Unione Europea per l'autorizzazione dei pesticidi (EFSA, 2013), la caratterizzazione dell'esposizione per gli organismi acquatici si basa sull'approccio *edge-of-field* e sull'utilizzo di modelli predittivi applicati a scenari ambientali artificiali rappresentativi delle ragionevoli condizioni peggiori nel territorio dell'Unione Europea (Linders et al., 2003). In genere, l'analisi viene effettuata per ogni singolo principio attivo presente nelle formulazioni commerciali. Nel nostro studio proponiamo un approccio di tipo *edge-of-field* per identificare le miscele più probabili e rilevanti dal punto di vista tossicologico emesse dagli appezzamenti trattati nel corso dell'anno. Questo approccio ha il vantaggio di ridurre il numero di dati di input (ad esempio, non sono necessari dati specifici del sito); d'altra parte, non è conosciuta la rilevanza spaziale delle previsioni. Inoltre, quando si considerano miscele di sostanze chimiche, il margine del campo potrebbe non essere il caso peggiore in termini di rischio aggregato e dovrebbe essere presa in considerazione anche una valutazione a scala di bacino (Holmes et al., 2018). I risultati ottenuti con l'approccio *edge-of-field* non possono essere estrapolati su una scala spazio-temporale più ampia (ad esempio,

un bacino idrografico ed anno idrologico) e potrebbe non essere appropriato un confronto tra i nostri risultati e quelli derivanti dalle campagne di monitoraggio. D'altra parte, la composizione delle miscele di sostanze attive in un bacino idrografico dipende fortemente dai pesticidi emessi dalle colture a bordo campo. In piccoli bacini caratterizzati da un'omogeneità nell'uso del suolo agricolo (una o poche colture), la composizione della miscela sarà caratterizzata da quei pesticidi che sono largamente utilizzati sulle colture prevalenti presenti nell'area considerata.

Sulla base di queste considerazioni, e per validare (almeno qualitativamente) l'approccio proposto, abbiamo confrontato i nostri risultati con i dati derivanti dai piani di monitoraggio (considerando il periodo 2015-2017) effettuati dalle autorità regionali italiane e lombarde (ARPA Lombardia, 2022; Istituto Superiore per la Protezione e la Ricerca Ambientale [ISPRA], 2020), in particolare in regione Lombardia, dove entrambe le colture sono diffuse. Purtroppo, Mancozeb (Manc), Dithionon (Dith), Metiram (Meti) e Captan (Cap) non sono (o sono scarsamente) inclusi nell'elenco dei piani di monitoraggio in Italia (ISPRA, 2020) e questo ha ostacolato la possibilità di un confronto per il melo. Di conseguenza, abbiamo concentrato la nostra attenzione su un piccolo bacino fluviale della Lombardia (basso corso dell'Adda, Nord Italia) caratterizzato dalla presenza intensiva di mais (~73% della

Tabella 5. Miscele prioritarie (TU >1) rilasciate dal melo durante un anno per diversi scenari FOCUS e organismi acquatici. Il contributo di ogni componente alla tossicità complessiva della miscela è espresso in percentuale (in grassetto se il contributo è >70%; - quando il contributo è ≤1%)

Scenario	Periodo	Gly	Chlor	Pend	MCPA	Tebu	Manc	Fos-AI	Cap	Meti	Dith
<i>Algae</i>											
D4	20 Aprile	-	-	-	-	-	100	-	-	-	-
	26 Aprile	-	-	100	-	-	-	-	-	-	-
	30 Maggio	-	-	-	-	-	-	-	2.1	97	-
R3	4 Aprile	4.2	-	-	-	-	95	-	-	-	-
	11 Aprile	-	-	100	-	-	-	-	-	-	-
	12 Aprile	-	-	33.5	-	-	-	-	-	66.4	-
	20-21 Aprile	-	-	39	-	-	-	-	11	49	-
	Novembre	-	-	100	-	-	-	-	-	-	-
R4	21 Marzo	4	-	-	-	-	96	-	-	-	-
	15 Aprile	-	-	94	-	-	-	-	-	6	-
	22 Aprile	-	-	-	-	-	-	-	-	100	-
	26 Aprile	-	-	18	-	-	-	-	5	77	-
	4 Maggio	-	-	-	-	-	-	-	-	100	-
	8 Maggio	-	-	19	-	-	-	-	3	77	-
	18-20 Maggio	-	-	61-73	-	-	-	-	1.7-5	21-30	2.9-34
	Luglio-Dicembre	-	-	100	-	-	-	-	-	-	-
<i>Daphnia</i>											
D4	20 Aprile	-	-	-	-	-	100	-	-	-	-
	26 Aprile	-	-	100	-	-	-	-	-	-	-
	30 Maggio	-	100	-	-	-	-	-	-	-	-
	4 Luglio	-	-	-	-	-	-	4.2	-	-	95
	6-9 Dicembre	-	100	-	-	-	-	-	-	-	-
R3	4-5 Aprile	-	-	-	-	-	100	-	-	-	-
	9 Aprile	-	-	-	-	-	6	-	94	-	-
	11 Aprile	-	-	100	-	-	-	-	-	-	-
	12 Aprile	-	-	51	-	-	2	-	-	47	-
	18 Aprile	-	-	-	-	-	2	-	98	-	-
	20 21Aprile	-	30	8	-	-	-	-	57	5	-
	27 Aprile-16 Maggio	-	-	-	-	-	-	-	99-100	-	-
	18-23 Maggio	-	100	-	-	-	-	-	-	-	-
	30 Maggio	-	23	-	-	-	-	-	76.5	-	-
	16 -30 Giugno	-	2.7-6.3	-	-	-	-	≤6.3	87-97	-	-
11 Ottobre- 28 Nov.	-	98-99	1.3-1.9	-	-	-	-	-	-	-	
R4	21 Marzo	-	-	-	-	-	100	-	-	-	-
	15 Aprile	-	-	91.6	-	1.8	-	-	3.8	2.8	-
	26 Aprile	-	14.5	8.9	-	-	-	-	57.9	18	-
	28-29 Aprile	-	100	-	-	-	-	-	-	-	-
	3 Maggio	-	13	-	-	-	-	-	87	-	-
	8-9 Maggio	-	99-100	-	-	-	-	-	-	-	-
	10-12 Maggio	-	27	-	-	-	-	-	-	-	73
	12 Maggio	-	31	-	-	-	-	-	69	-	-
	19 Maggio	-	100	-	-	-	-	-	-	-	-
	21 Maggio	-	69	-	-	-	-	-	31	-	-
	22-25 Maggio	-	100	-	-	-	-	-	-	-	-
	30 Maggio	-	37	-	-	-	-	-	63	-	-
	12 Giugno	-	19	-	-	-	-	5	75	-	-
	29 Giugno-Dicembre	-	96-100	≤3.6	-	-	-	-	-	-	-

Tabella 5. Miscele prioritarie (TU >1) rilasciate dal melo durante un anno per diversi scenari FOCUS e organismi acquatici. Il contributo di ogni componente alla tossicità complessiva della miscela è espresso in percentuale (in grassetto se il contributo è >70%; - quando il contributo è ≤1%)

Scenario	Periodo	Gly	Chlor	Pend	MCPA	Tebu	Manc	Fos-AI	Cap	Meti	Dith
<i>Pesce</i>											
D4	20 Aprile	-	-	-	-	-	100	-	-	-	-
	26 Aprile	-	-	100	-	-	-	-	-	-	-
	30 Maggio	-	13.6	-	-	-	-	-	84.6	1.8	-
	4 Luglio	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100
R3	4 Aprile	14	-	-	-	5.5	80	-	-	-	-
	9-10 Aprile	-	-	-	-	-	-	-	100	-	-
	11 Aprile	-	-	100	-	-	-	-	-	-	-
	12 Aprile	-	-	32	-	-	-	-	-	68	-
	18 Aprile-17 Maggio	-	-	-	-	-	-	-	99-100	-	-
	18 Maggio	-	37	-	-	-	-	-	-	-	63
	30 Maggio 1 Luglio	-	-	-	-	-	-	-	100	-	-
R4	21 Marzo	15	-	-	-	-	85	-	-	-	-
	26 Marzo	-	-	-	-	-	-	-	100	-	-
	15 Aprile	-	-	20	-	-	-	-	77.9	1.4	-
	22 Aprile	-	-	-	-	-	-	-	-	100	-
	24 Aprile	-	-	-	-	-	-	-	100	-	-
	26-27 Aprile	-	-	-	-	-	-	-	99	-	-
	28 Aprile	-	99	-	-	-	-	-	1.1	-	-
	3 Maggio	-	-	-	-	-	-	-	100	-	-
	4 Maggio	-	-	-	-	-	-	-	2	98	-
	8 Maggio	-	2.4	-	-	-	-	-	96	1.1	-
	10 Maggio	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100
	12-18 Maggio	-	≤4	-	-	-	-	-	92-100	-	-
	19-20 Maggio	-	11	1.4	-	-	-	-	76	-	11
	21 Maggio -12 Giugno	-	-	-	-	-	-	-	100	-	-
	23-30 Giugno	-	1.6-6.2	0.4-1.7	-	-	-	-	91-97	-	0.3-1.1
4 Luglio	-	19.3	6	-	-	-	-	72	-	2.9	
10 Luglio	-	46	17	-	-	-	-	33	-	5	
15-23 Luglio	-	61-62	26-33	-	-	-	-	1.3-8.5	-	3.1-4.7	

superficie agricola totale, ISTAT, 2022). Secondo il dossier ICPS (ICPS, 2007), l'area considerata è meglio rappresentata dagli scenari FOCUS D4 e D6. Per questo motivo, abbiamo confrontato i dati di monitoraggio con i risultati ottenuti per questi scenari. Dai calcoli di MIXTOOL, riportati in Tabella 2 e nella Figura 2A-C, la presenza di miscele ad alto rischio su appezzamenti coltivati a mais in scenari D4 e D6 è riportata in aprile (alghe e pesci), a maggio (Daphnia e pesci) e tra ottobre e dicembre (Daphnia). Inoltre, come precedentemente esposto, la tossicità complessiva delle miscele è strettamente dipendente dal contributo di uno (Chlor o Chlor-met per Daphnia e pesci) o pochi componenti (Terb, s-Meto, Pend per gli organismi algali). Anche se con qualche piccola differenza, i nostri risultati sembrano essere in accordo con i dati di monitoraggio. La Tabella 6 riporta le miscele ad alto rischio rilevate durante le campagne di monitoraggio nel tratto inferiore del fiume Adda nel 2015-2017. I dati confermano che il rischio più elevato per gli organismi acquatici si verifici tra maggio e luglio. In particolare per le alghe, il rischio è dovuto principalmente alla presenza di Terb, s-Meto e Flufenacet, mentre per la Daphnia e i pesci il rischio è associato esclusivamente alla presenza di residui di Clor o Clor-met.

Flufenacet e Pend sono le uniche sostanze con valori diversi tra i risultati calcolati da MIX-TOOL e i dati di monitoraggio. Una possibile spiegazione di questa discrepanza è che la scelta del Pend è stata fatta in base alla quantità di sostanza attiva venduta in Italia. Tuttavia, questo composto è registrato per molte colture (al contrario del Flufenacet); inoltre, in Lombardia Pend non è tra i pesticidi più utilizzati.

CONCLUSIONI

Nel presente studio viene proposto un approccio di valutazione del rischio *edge-of-field* per la valutazione di miscele di pesticidi potenzialmente impattanti emesse dalle colture agricole nelle acque superficiali (Finizio et al, 2022b, <https://doi.org/10.1002/etc.5363>). L'approccio utilizza le procedure standard previste per l'autorizzazione all'immissione in commercio nell'Unione Europea per le singole sostanze attive, ma è stato messo a punto per la previsione di miscele di pesticidi rilevanti nelle acque superficiali. La composizione delle miscele emesse dalle colture nel corso dell'anno è stata ottenuta prendendo in considerazione le strategie di difesa autorizzate (cioè le sostanze attive registrate su una coltura) e utiliz-

Tabella 6. Miscele potenzialmente preoccupanti (TU>1) identificate nel tratto inferiore del fiume Adda (Lombardia; piano di monitoraggio: 2015-2017). TUmix: tossicità della miscela (per il calcolo, si veda eq. 1). Per gli acronimi delle sostanze attive nella composizione della miscela, si veda Tabella 1

Nome stazione	Data di campionamento	TU	Composizione della miscela (% di contributo alla tossicità di miscela complessiva)
Algae			
Crema - Molinara (Roggia)	25/06/2015	7,3	Terb (74), s-Meto (25)
Castelnuovo Bocca d'Adda - Adda (Collettore)	14/04/2016	3,4	Terb (67), Flu (28), s-Meto (4.4)
Castelnuovo Bocca d'Adda - Adda (Collettore)	14/05/2015	2,5	Terb (45), s-Meto (36), Flu (13.6)
Castelnuovo Bocca d'Adda - Adda (Collettore)	16/06/2015	1,7	s-Meto (43), Terb (36), Flu (17)
Crema - Cresmiero (Roggia)	25/06/2015	1,6	s-Meto (51), Terb (48)
Castelnuovo Bocca d'Adda - Gandiolo (Colatore)	14/05/2015	1,5	Flu (67), Terb (14%), s-Meto (9)
Daphnia			
Castelnuovo Bocca d'Adda - Adda (Collettore)	14/05/2015	20	Chlor (100)
Castelnuovo Bocca d'Adda - Gandiolo (Colatore)	14/05/2015	20	Chlor (100)
Montodine - Serio (Fiume)	05/07/2017	3	Chlor-met (100)
Pesci			
Castelnuovo Bocca d'Adda - Adda (Collettore)	14/05/2015	2	Chlor (88), s-Meto (7), Terb (3),
Castelnuovo Bocca d'Adda - Gandiolo (Colatore)	14/05/2015	2	Chlor (96), s-Meto (1)

zando i modelli FOCUS per il calcolo della PEC di ogni sostanza attiva nelle acque superficiali. Nel software MIX-TOOL proposto, le PEC ottenute dall'applicazione dei modelli FOCUS sono espresse a livello giornaliero. Ciò consente di calcolare la tossicità della miscela emessa da una determinata coltura nell'arco di un anno mediante l'applicazione del modello di *Concentration Addition* (CA). Per semplificare la procedura, abbiamo sviluppato un semplice strumento basato sul programma Microsoft-Excel (MIX-TOOL, scaricabile da <https://drive.google.com/file/d/1sbPCN-PSYh8qlaYL3ljM38lz5Aowh3VE/view>). L'applicazione della procedura al caso studio delle colture mais e melo (rappresentative del contesto agricolo italiano) ha permesso di identificare le miscele impattanti rilasciate da queste colture su scala *edge-of-field*. Il notevole accordo tra le miscele previste e quelle osservate ha dimostrato la validità del metodo MIX-TOOL applicato a un'area caratterizzata dalla presenza intensiva di mais (tratto inferiore del fiume Adda). Riteniamo che questo tipo di strumento possa essere un utile supporto per le agenzie ambientali in Europa ed in Italia al fine di valutare l'impatto delle miscele di pesticidi nelle acque superficiali. Il programma è anche corredato di un manuale di utilizzo (*user manual*) che può essere richiesto agli autori di questo articolo.

BIBLIOGRAFIA

ALTENBURGER R., BACKHAUS T., BOEDEKER W., FAUST M., SCHOLZE M., GRIMME L.H., (2000): "Predictability of the toxicity of multiple chemical mixtures to *Vibrio Fischeri*: mixtures composed of similarly acting chemicals". *Environmental Toxicology and Chemistry*, 19: 2341-2347.

ARPA Lombardia, (2022) [https://www.arpalombardia.it/Pages/ricerca-Dati-ed-Indicatori.aspx?sottotema=Acque superficiali](https://www.arpalombardia.it/Pages/ricerca-Dati-ed-Indicatori.aspx?sottotema=Acque%20superficiali). Last visited on February 2022.

BACKHAUS T., ALTENBURGER R., BOEDEKER W., FAUST M., SCHOLZ, M., GRIMME L.H., (2000):

"Predictability of the toxicity of multiple mixtures of dissimilarly acting chemicals to *Vibrio Fischeri*". *Environmental Toxicology and Chemistry*, 19: 2348-2356.

BELDEN J.B., GILLIOM R.J., MARTIN J.D., LYDY M.J., (2007): "Relative toxicity and occurrence patterns of pesticide mixture in streams draining agricultural watersheds dominated by corn and soybean production". *Integrated Environmental Assessment and Management*, 3: 90-100.

BONZINI S., VERRI R., OTTO S., LAZZARO L., FINIZIO A. ZANIN G., VIGHI M., (2006): "Experimental validation of a geographical information systems-based procedure for predicting pesticide exposure in surface water". *Environmental Science & Technology*, 40 (24): 7561-7569.

CCANCCAPA A., MASIÁ A., NAVARRO-ORTEGA A., PICÓ Y., BARCELÓ D., (2016): "Pesticides in the Ebro River basin: Occurrence and risk assessment". *Environmental Pollution*, 211: 414-424.

CHOW R., SCHEIDEGGER R., DOPPLER T., DIETZEL A., FENICIA F., STAMM C., (2020): "A review of long-term pesticide monitoring studies to assess surface water quality trends". *Water Research X*, 9: 100064.

CURCHOD L., OLTRAMARE C., JUNGHANS M., STAMM C., DALVIE M. A., RÖÖSLI M., FUHRMANN S., (2020): "Temporal variation of pesticide mixtures in rivers of three agricultural watersheds during a major drought in the Western Cape, South Africa". *Water Research X*, 6: 100039.

DALY G.L., WANIA F., (2005): "Organic contaminants in mountains". *Environmental Science & Technology*, 39: 385-398.

DE ZWART D., (2005): "Ecological effects of pesticide use in The Netherlands: modelled and observed effects in the field ditch". *Integrated Environmental Assessment and Management*, 1: 123-134.

DEKNOCK A., DE TROYER N., HOUBRAKEN M., DO-

- MINGUEZ-GRANDA L., NOLIVOS I., VAN ECHELPOEL W., EURIE FORIO M.A., SPANOGHE P., GOETHALS P., (2019): "Distribution of agricultural pesticides in the freshwater environment of the Guayas river basin (Ecuador)". *Science of The Total Environment*, 646: 996-1008.
- DI GUARDO A., CALAMARI D. ZANIN G., CONSALTER A. MACKAY D., (1994): "A fugacity model of pesticide runoff to surface water: development and validation". *Chemosphere*, 28 (3): 511-531.
- EC (European Commission), (2000): "Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council of 23 October 2000 establishing a framework for Community action in the field of water policy". *Official Journal of the European Union* (OJ L 327).
- EC (European Commission), (2009): "Regulation (EC) No 1107/2009 of the European Parliament and of the Council of 21 October 2009 concerning the placing of plant protection products on the market and repealing Council Directives 79/117/EEC and 91/414/EEC. *Official Journal of the European Union* (OJ L 309).
- EFSA (European Food and Safety Agency), (2013): "Guidance on tiered risk assessment for plant protection products for aquatic organisms in edge-of-field surface waters". *EFSA Journal*, 11 (7): 3290.
- EFSA (European Food and Safety Agency), (2019): "Guidance on harmonised methodologies for human health, animal health and ecological risk assessment of combined exposure to multiple chemicals". *EFSA Journal*, 17 (3): 5634.
- ESDAC (European Soil Data Center), (2021): <https://esdac.jrc.ec.europa.eu/projects/focus-dg-sante>. Last visited: 15/12/2021
- EUROSTAT, (2020): "Agriculture, forestry and fishery statistics", 2020 edition (downloadable at: <https://ec.europa.eu/eurostat/documents/3217494/12069644/KS-FK-20-001-EN-N.pdf/a7439b01-671b-80ce-85e4-4d803c44340a?t=1608139005821>).
- FINIZIO, A., VILLA, S., VIGHI, M., (2005): "Predicting pesticide mixtures load in surface waters from a given crop". *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 111 (1-4): 111-118.
- FINIZIO, A., AZIMONTI, G., VILLA, S., (2011): "Occurrence of pesticides in surface water bodies: a critical analysis of the Italian national pesticide survey programs". *Journal of Environmental Monitoring* 13: 49-57.
- FINIZIO, A., GRENNI, P., PETRANGELI, A.B., BARRA CARACCILO, A., SANTORO, S., DI GUARDO, A., (2022a): "Use of large datasets of measured environmental concentrations for the ecological risk assessment of chemical mixtures in Italian streams: A case study". *Science of The Total Environment*, 806 (Pt 2): 150614.
- FINIZIO, A., DI GUARDO, A., MENABALLI, L., BARRA CARACCILO, A., GRENNI, P., (2022b): "Mix-Tool: An edge-of-field approach to predict pesticide mixtures of concern in surface water from agricultural crops". *Environmental Toxicology and Chemistry*, 41 (8): 2028-2038.
- FOCUS (Forum for the Co-ordination of pesticide fate models and their Use), (2001): "FOCUS surface water scenarios in the EU evaluation process under 91/414/EEC". Report of the FOCUS working group on surface water scenarios, EC Document Reference SANCO/4802/2001-rev.2, 2001.
- GUSTAVSSON, M., KREUGER, J., BUNDSCHUH, M., BACKHAUS, T., (2017): "Pesticide mixtures in the Swedish streams: Environmental risks, contributions of individual compounds and consequences of single-substance oriented risk mitigation". *Science of The Total Environment*, 598: 973-983.
- JUNGHANS, M., BACKHAUS, T., FAUST, M., SCHOLZE, M., GRIMME, L.H., (2005): "Application and validation of approaches for the predictive hazard assessment of realistic pesticide mixtures", *Aquatic Toxicology*, 76: 93-110.
- ICPS (International Centre for Pesticide Safety), (2007): <https://www.icps.it/it/pubblicazioni/scenari-xls/>.
- ICPS (International Centre for Pesticide Safety), (2021): <https://www.icps.it/pestidoc/> Last visited: 15/12/2021.
- ISTAT (Istituto Nazionale di Statistica), (2022): <http://dati-censimentoagricoltura.istat.it/Index.aspx>. Last visited on February 2022.
- KLEIN, M., (2012): "Estimation of reasonable application dates dependent on BBCH crop development stages for PELMO (all FOCUS groundwater locations)". Report Umweltbundesamt. Fraunhofer IME, Schmallenberg.
- LE COR, F., SLABY, S., DUFOUR, V., IURETIG, A., FEIDT, C., DAUCHY, X., BANAS, D., (2021): "Occurrence of pesticides and their transformation products in headwater streams: Contamination status and effect of ponds on contaminant concentrations". *Science of The Total Environment*, 788: 147715.
- LINDERS J., ADRIAANSE, P., ALLEN, R., CAPRI, E., GOUY, V., HOLLIS, J., JARVIS, N., KLEIN, M., LOLOS, P., MAIER, W.M., MAUND, S., PAIS, C., RUSSELL, M., SMEETS, L., TEIXEIRA, J.L., VIZANTINOPOULOS, S., YON, D., (2003): "FOCUS surface water scenarios in the EU Evaluation process under 91/414/EEC." Report prepared by the FOCUS Working group on surface water Scenarios. European Commission (SANCO/4802/2001-rev 2)
- MALAJ, E., VON DER OHE, P.C., GROTE, M., KÜHNE, R., MONDY, C.P., USSEGLIO-POLATERA, P., BRACK, W., SCHÄFER, R.B., (2014): "Organic chemicals jeopardize the health of freshwater ecosystems on the continental scale". *Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS)*, 111: 9549-9554.
- MEIER, U., (Ed.), (2001): "Growth stages of mono- and dicotyledonous plants". BBCH - Monograph.

2nd Edition, Federal Biological Research Centre for Agriculture and Forestry: 158 pp.

MORSELLI M., VITALE, C.M., IPPOLITO, A., VILLA, S., GIACCHINI, R., VIGHI, M., DI GUARDO, A., (2018): "Predicting pesticide fate in small cultivated mountain watersheds using the DynAPlus model: Toward improved assessment of peak exposure". *Science of The Total Environment*, 615: 307-318.

MOSCHET, C., WITTMER, I., SIMOVIC, J., JUNGHANS, M., PIAZZOLI, A., SINGER, H., STAMM, C., LEU, C., HOLLENDER, J., (2014): "How a complete pesticide screening changes the assessment of surface water quality". *Environmental Science & Technology*, 48: 5423-5432.

OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development), (2018): "Considerations for assessing the risks of combined exposure to multiple chemicals. Series on testing and assessment no. 296". Environment, Health and Safety Division, Environment Directorate. Paris, France: Organisation for Economic Co-operation and Development. <http://www.oecd.org/chemicalsafety/risk-assessment/considerations-for-assessing-the-risks-of-combined-exposure-to-multiple-chemicals.pdf>

PETERSEN, J., GRANT, R., LARSEN, S.E., BLICHER-MATHIESEN, G., (2012): "Sampling of herbicides in streams during flood events". *Journal of Environmental Monitoring*, 14: 3284-3294.

POSTHUMA, L., BROWN, C.D., DE ZWART, D., DIAMOND, J., DYER, S.D., HOLMES, C.M., MARSHALL, S., BURTON JR., G.A., (2018): "Prospective mixture risk assessment and management prioritizations for river catchments with diverse land uses". *Environmental Toxicology and Chemistry*. 37: 715–728.

RABIET, M., MARGOUM, C., GOUY, V., CARLUER, N., COQUERY, M., (2010): "Assessing pesticide concentrations and fluxes in the stream of a small vineyard catchment - effect of sampling frequency". *Environmental Pollution*, 158: 737-748.

RELYEA, R.A., (2008): "A cocktail of contaminants: how mixtures of pesticides at low concentrations affect aquatic communities". *Oecologia*, 159: 363-376.

RYDH STENSTRÖM, J., Kreuger, J., Goedkoop, W., (2021): "Pesticide mixture toxicity to algae in agricultural streams - Field observations and laboratory studies with in situ samples and reconstituted water". *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 215: 112153.

RIZZI, C., FINIZIO, A., MAGGI, V., VILLA, S., (2019): "Spatial-temporal analysis and risk characterisation of pesticides in Alpine glacial streams". *Environmental Pollution*, 248: 659-666.

SCHER (Scientific Committee on Health and Environmental Risks), SCENIHR (Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks), SCCS (Scientific Committee on Consumer Safety), (2012): "Toxicity and Assessment of Chemical Mixtures". https://ec.europa.eu/health/scientific_committees/environmental_risks/docs/

[scher_o_155.pdf](#).

SCHREINER, V.C., SZÖCS, E., BHOWMIK, A.K., VIJVER, M.G., SCHÄFSCHEINER, V.C., SZÖCS, E., BHOWMIK, A.K., VIJVER, M.G., SCHÄFER, R.B., (2016): "Pesticide mixtures in streams of several European countries and the USA". *Science of The Total Environment*, 573: 680-689.

SCHULZ, R., (2004): "Field Studies on Exposure, Effects, and Risk Mitigation of Aquatic Nonpoint-Source Insecticide Pollution: A Review". *Journal of Environmental Quality*, 33: 419-448.

SCHWARZENBACH, R.P., ESCHER, B.I., FENNER, K., HOFSTETTER, T.B., JOHNSON, C.A., VON GUNTEN U., WEHRLI, B., (2006): "The challenge of micropollutants in aquatic systems". *Science*, 313: 1072-1077.

SIAN (Sistema Informativo Agricolo Nazionale), 2021. <https://www.sian.it/portale-sian/attivaservizio.jsp?sid=174&pid=6&servizio=Banca+Dati+Fitofarmaci&bottoni=no> Last visited: 15/12/2019.

VIGHI, M., ALTENBURGER, R., ARRHENIUS, Å., BACKHAUS, T., BÖDEKER, W., BLANCK, H., CONSOLARO, F., FAUST, M., FINIZIO, A., FROEHNER, K., GRAMATICA, P., GRIMME, L., GRÖNVALL, F., HAMER, V., SCHOLZE, M., WALTER, H., (2003): "Water quality objectives for mixtures of toxic chemicals: problems and perspectives". *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 54: 139-150

Monitoraggio e quantificazione del trasporto solido in sospensione: sviluppo di *sediment rating curve*

a cura di

Anna Maria De Girolamo (*), *Istituto di Ricerca sulle Acque, viale F. De Blasio 5, Bari*

RIASSUNTO

L'obiettivo del presente lavoro è definire una metodologia per valutare il trasporto solido in sospensione in un corso d'acqua a regime torrentizio mediante lo sviluppo di curve di deflusso (*sediment rating curve*). A tale scopo, sono state utilizzate misure in continuo di portata (Q) e valori discreti (n = 210) di concentrazioni di solidi in sospensione (SSC), campionati dal 2010 al 2011 nella sezione "Masseria Pirro" del fiume Celone (SE, Italia). Per migliorare l'accuratezza nella stima del carico, l'intero set di dati è stato suddiviso in tre sottoinsiemi di dati sulla base del regime idrologico (piena, morbida, magra) e per ciascun subset di dati è stata sviluppata una *sediment rating curve* mediante la quale è stata stimata la SSC in funzione della Q ed infine stimato il carico di SS a scala annuale. Per ridurre l'errore di back-transformation è stato introdotto un fattore di correzione (CF). Applicando la stratificazione dei dati, il carico specifico annuo variava da 261 t km⁻² a⁻¹ a 606 t km⁻² a⁻¹ senza e con l'introduzione del CF, rispettivamente. Tale valore è indicativo di accentuati processi erosivi in atto nel bacino idrografico.

SUMMARY

Sampling strategies and methods used for estimating sediment load passing through a river section can lead to a large uncertainty in suspended sediment transport quantification, especially in rivers with a high variability in streamflow. The aim of this paper is to evaluate suspended sediment load by developing sediment rating curves. To improve the accuracy in load estimation, the whole dataset was divided in three subsets of data based on the flow regime, and sediment rating curves were developed for each dataset. In addition, a correction factor (CF) was introduced for reducing the back-transformation bias. One year of continuous measurement of streamflow, and discrete values (n = 210) of suspended sediment concentration, sampled from 2010 to 2011 in the Celone River (SE, Italy), were used to estimate the annual load. After applying the flow regime stratifications, the specific annual load ranged from 261 to 606 t km⁻² a⁻¹.

1. INTRODUZIONE

Studi recenti hanno evidenziato che il 70% del territorio dell'Unione Europea è soggetto a degrado del suolo a causa di pratiche gestionali non sostenibili (EC, 2020). Nell'Europa meridionale il 25% del territorio è ad alto rischio di desertificazione (Ferreira et al., 2022). L'erosione del suolo è una delle principali cause della perdita della biodiversità, della compattazione e contaminazione dei suoli (Panagos et al., 2020). L'erosione del suolo ed il trasporto di sedimenti, inoltre, hanno un ruolo fondamentale nel veicolare verso i corpi idrici superficiali gli inquinanti derivanti dalle attività antropiche (De Girolamo et al., 2019).

I fattori geomorfologici e climatici che caratterizzano i bacini idrografici dell'Appennino e le pratiche agronomiche adottate nelle aree collinari e montuose (e.g. arature a rittochino) contribuiscono alla perdita di suolo ad opera dello scorrimento superficiale delle acque. Il regime idrologico dei corsi d'acqua contribuisce, inoltre, alla definizione del regime dei sedimenti attraverso i processi di erosione e sedimentazione in alveo.

La quantificazione del trasporto in sospensione fornisce importanti informazioni relative sia ai processi

erosivi in atto in un bacino idrografico sia agli aspetti qualitativi delle acque superficiali (De Girolamo et al., 2015). Le metodologie più utilizzate per quantificare il trasporto solido in sospensione sono basate su misure in continuo di torbidità condotte mediante sonde ottiche a infrarossi o basate su campionamenti discreti di acqua e determinazioni in laboratorio delle concentrazioni di solidi in sospensione (SSC). In una sezione fluviale, la quantificazione dei carichi di solidi in sospensione è determinata mediante l'integrale, nell'intervallo di tempo considerato, del prodotto della portata (Q) per la SSC. Questa relazione non può essere applicata nel caso di dati discreti di SSC non essendo nota la legge di variazione della SSC tra due campionamenti successivi. Tale problema, noto in letteratura come *load estimation problem*, è stato affrontato da numerosi ricercatori. Tuttavia, la maggior parte degli studi ha riguardato bacini di medie e grandi dimensioni mentre non sono stati adeguatamente studiati i piccoli bacini con fiumi a carattere intermittente (De Girolamo et al., 2018). La disponibilità di dati, le dimensioni del bacino ed il regime delle portate giocano un ruolo fondamentale nella scelta del metodo da utilizzare, sebbene ogni metodo presenti limitazioni.

Obiettivo del presente studio è definire una metodolo-

* annamaria.degirolamo@ba.irsas.cnr.it

già per quantificare il trasporto solido in sospensione basata su dati discreti di SSC e dati in continuo di Q. A tal fine è stato esaminato un caso di studio: il Torrente Celone (Puglia).

2. MATERIALI E METODI

2.1 Area di studio

L'area di studio (72 km²) costituisce la parte montana del bacino idrografico del torrente Celone (Puglia settentrionale). Il torrente ha origini sul Monte San Vito (Monti Dauni), esso scorre verso nord-est e confluisce nell'invaso Capaccio (capacità 25.82 milioni di m³). A monte dell'invaso Capaccio, l'asta principale è lunga 24 km e l'intera rete di drenaggio è di circa 80 km.

L'alveo si presenta inciso nella zona montana, con dimensioni relativamente modeste, pendenze elevate ed in fase di erosione accentuata. In tutta l'area montana sono state costruite numerose briglie per ridurre l'erosione delle sponde. Il canale principale assume una forma a canali intrecciati in corrispondenza di una pianura alluvionale, dove buona parte del materiale grossolano viene depositato, e prosegue poi con un tracciato meandriforme. Le principali unità litologiche sono formazioni flyshoidi (flysch della Daunia) e argille grigio-azzurre nella parte alta del bacino e depositi alluvionali nella pianura. I principali tipi di suolo sono classificati come tipic-haploxeroll, vertic-haploxeroll e tipic-calcixeroll secondo la classificazione USDA. L'altitudine media dell'area è di 386m s.l.m. (da 218 m a 1142 m). Dal 1960 al 2001, la precipitazione media annua era 792 mm nella zona di monte (Faeto; 866) e 623 mm nella zona di valle (Troia) mentre la temperatura variava tra 3,4°C (a gennaio) e 20,3°C (ad agosto) nella parte alta del bacino e tra 7,2°C e 25,5°C nella zona di valle. In estate, generalmente, si registrano eventi di breve durata ed elevata intensità. Le precipitazioni esercitano una grande influenza sul regime di deflusso del Celone, sull'erosione e sul dilavamento di sedimenti e

nutrienti.

La principale attività economica è l'agricoltura prevalentemente estensiva. Boschi decidui e piantagioni di conifere sono presenti nell'area montana. In autunno ed in inverno, la maggior parte delle aree agricole non sono protette dall'erosione (campi seminati ed arati per le colture primaverili). L'erosione è favorita dalle modalità delle arature, per lo più a rittochino, adottate nella parte montana e collinare del bacino, il cui territorio è spesso suddiviso in piccoli appezzamenti che percorrono i pendii.

2.1 Misure di portata e solidi in sospensione

Nel presente lavoro sono stati utilizzati i dati di Q e SSC misurati dal 1 luglio 2010 al 30 giugno 2011 nella stazione di monitoraggio presso la Masseria Pirro (Fig. 2), a monte dell'invaso Capaccio. La stazione di monitoraggio è costituita da un campionatore automatico ISCO (modello 6712FS; 24 bottiglie; volume pompato 1 L) e da un misuratore di portata (ISCO 750 Area velocity-flow module). Un sensore fornisce misure in continuo (5 min) di velocità e pressione (battente idrico), le quali sono convertite in portata mediante una predefinita *stage-discharge rating curve*.

Il campionatore automatico offre differenti possibilità di programmazione. Nel caso in esame, è stato utilizzato un programma standard con campionamenti periodici ad intervalli regolari: quindicinali nei periodi estivo-autunnali, ed uno o due a settimana da Novembre a Giugno. Un secondo programma, definito in funzione della variazione di livello e della velocità di flusso, ha consentito di campionare gli eventi di piena con un intervallo di tempo variabile tra due campioni successivi (da 15 min a 2 ore durante la fase ascendente dell'idrogramma e da 2 ore ad un giorno durante la fase di recessione). La strumentazione è stata installata seguendo le indicazioni riportate nel manuale dell'*US Geological Service*. La concentrazione totale dei solidi sospesi è stata determinata usando il metodo analitico standard APAT-IRSA (2003). Per filtrare i campioni sono stati usati filtri di cellulosa con pori standard di 45 µm. Ulteriori informazioni sul campionamento e sulla strumentazione sono riportate in De Girolamo et al. (2015).

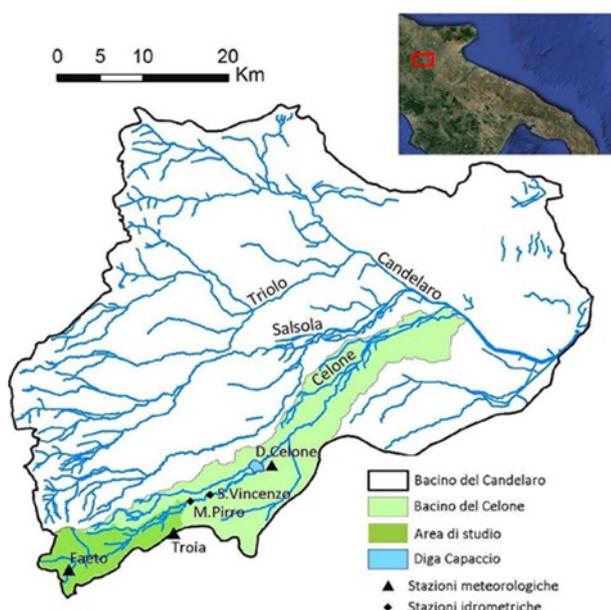


Figura 1. Area di studio. Stazioni di misura della portata e della concentrazione di solidi in sospensione (M. Pirro)

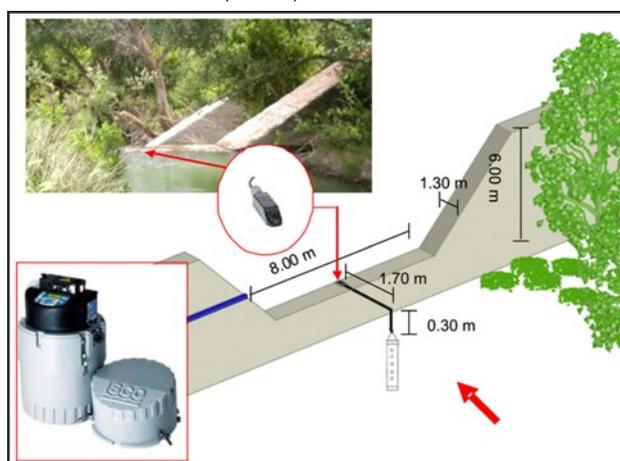


Figura 2. Stazione di monitoraggio presso la Masseria Pirro (Celone, FG) costituita da un campionatore automatico ed un misuratore di portata

2.3 Stima dei carichi del materiale trasportato in sospensione

Il flusso di sedimenti che attraversa una sezione trasversale di un fiume durante un intervallo di tempo prestabilito può essere espresso tramite la relazione:

$$Load = \int_{t_0}^{t_1} Q \times SSC \quad [1]$$

Dove:

Q è la portata al tempo t [L s⁻¹];

SSC è la concentrazione dei solidi sospesi al tempo t (s) [mg L⁻¹];

Load è il carico di SS che attraversa la sezione trasversale nello stesso intervallo di tempo [mg].

Quando non si dispone di dati in continuo sia di Q sia di SSC tale relazione (Eq. 1) non può essere applicata. Molti metodi sono stati sviluppati per valutare il carico di SS in presenza di dati in continuo di portata e di dati discreti di SSC (De Girolamo et al., 2018), la cui applicazione richiede una frequenza di campionamento tale da ricoprire tutte le condizioni idrologiche. Uno dei metodi ampiamente usati è una relazione empirica tra SSC (variabile dipendente) e Q (variabile indipendente) definita come *sediment rating curve*, ossia una funzione di potenza derivata da una regressione dei minimi quadrati trasformata in forma logaritmica (Eq. 2):

$$\log SSC = \log a + b \log Q \quad [2]$$

La *back-transformation* dei risultati dell'Eq. 2 (da log SSC a SSC), tuttavia, porta ad un *bias* e, pertanto, a valori di carico di sedimento sottostimati rispetto ai valori reali. De Girolamo et al. (2015) hanno evidenziato che le *sediment rating curve* forniscono una sostanziale sottostima delle effettive alte concentrazioni e una sovrastima delle effettive basse concentrazioni. Gli autori hanno proposto l'introduzione di un fattore correttivo. Nel presente lavoro è stato applicato il fattore di correzione definito *Smearing Estimator* (CF) (Duan 1983) che non richiede alcuna assunzione circa la distribuzione dei dati:

$$CF = \frac{\sum_{i=1}^N 10^{\epsilon_i}}{N} \quad [3]$$

dove ϵ_i è calcolato con la seguente equazione:

$$\epsilon_i = \log SSC_i - \log SSC'_i \quad [4]$$

dove N è il numero di osservazioni

2.4 Stratificazione dei dati in funzione della portata

Per migliorare la stima del carico di sedimenti, De Girolamo et al. (2015; 2018) hanno proposto lo sviluppo di *sediment rating curve* per subset di dati, stratificati in funzione delle portate: piena (high flow), morbida (normal flow) e di magra (low flow). Tale metodologia è derivata dalla considerazione che l'utilizzo

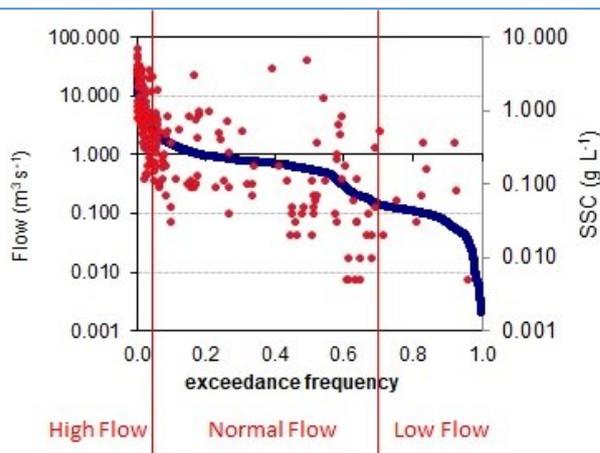


Figura 3. Curva di durata, concentrazioni di solidi in sospensione, stratificazione dei dati adottata

dell'intero dataset per lo sviluppo di *sediment rating curve* porterebbe ad una sottostima dei carichi poiché la maggior parte dei sedimenti è trasportata durante gli eventi di piena.

Per la definizione dei subset, nel presente lavoro è stato seguito l'approccio definito da De Girolamo et al. (2015) basato sulla curva di durata (Figura 3). In particolare, il dataset corrispondente alla condizione di deflusso di piena è stato definito per una frequenza di superamento delle portate del 5%, la condizione di morbida è stata definita per una frequenza di superamento dal 5% al 70%, ed un ultimo dataset è stato identificato per i deflussi di magra per una frequenza di superamento maggiore del 70% (*low flow*). :

3. RISULTATI E DISCUSSIONI

3.1 Idrometeorologia e idrologia

Le precipitazioni annue registrate nel periodo di studio nelle stazioni di Faeto e Troia (Tabella 1) sono risultate più elevate rispetto ai dati storici (1960-1996) del 43% e 2,4%, rispettivamente. Analogamente, il deflusso misurato nella stazione Masseria Pirro (72 km²) nel periodo di studio, espresso in mm g⁻¹, è risultato maggiore del deflusso misurato a valle nella stazione Celone a San Vincenzo (85,8 km²) nel periodo storico esaminato (Figura 1).

3.2 Variabilità della concentrazione dei sedimenti sospesi

Nel periodo di studio, sono stati registrati 21 eventi di piena e sono stati analizzati 210 campioni. Una significativa correlazione (r = 0,81) tra SSC e Q è stata

Tabella 1. Dati idrologici registrati nel bacino

Periodo	Precipitazione [mm a ⁻¹]		Deflusso [mm g ⁻¹]		
	Faeto	Troia	Min	Max	Media
2010-2011	1140	638	0.005	19,81	0,960
1960-1996	792 ^a	623 ^a	0.000	19,23	0,417
	±	±			
	135 ^b	110 ^b			

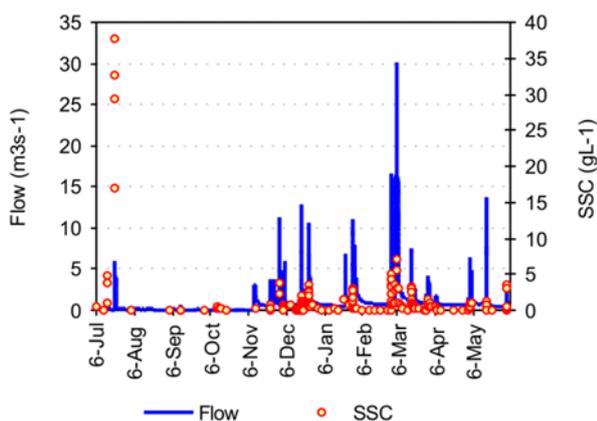


Figura 4. Concentrazioni di solidi in sospensione (SSC) e portate istantanee registrate nella stazione masseria Pirro (luglio 2010 – giugno 2011)

determinata (F-test; $p < 0.01$). Il corrispondente coefficiente di determinazione ($R^2 = 0,66$) indica che il 66% della varianza di SSC può essere spiegato dalla Q mentre il 34% è giustificato da altri fattori (e.g. precipitazione, intensità e distribuzione spaziale, copertura vegetale, pratiche gestionali) (Di Pillo et al., 2023).

Il regime idrologico del torrente Celone gioca un ruolo fondamentale nel trasporto dei sedimenti (Figura 4). Nel periodo estivo, la rete idrografica del torrente è caratterizzata da deflussi estremamente bassi o da assenza di deflusso superficiale. In questo periodo sono frequenti piene improvvise (*flash floods*) la cui durata è limitata a poche ore, durante le quali un rilevante quantitativo di materiale in sospensione viene addotto al fiume. In particolare, il 21 luglio 2011 a seguito di un evento di pioggia di elevata intensità ($73,6 \text{ mm h}^{-1}$), con valori di Q al colmo pari a $5,95 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$, si sono registrati valori elevati di SSC ($37,60 \text{ g L}^{-1}$) (Figura 4).

3.3 Carico di sedimenti in sospensione

Sono state sviluppate tre sediment rating curve, una per ciascun dataset definito dalla suddetta stratificazione (Figura 5). I valori di SSC sono stati stimati per ciascun valore di Q (scala temporale 15 min) usando l'equazione di riferimento a seconda del valore di Q.

Analogamente, il coefficiente CF è stato valutato per ciascun subset (Tabella 2). I valori assunti dal CF per i deflussi di morbida (normal flow) sono risultati più elevati dei corrispondenti valori relativi ai deflussi di piena (high flow) e di magra (low flow).

I carichi di SS sono stati valutati con e senza i relativi CF su scala sub-oraria (15 min) ed aggregati successi-

Tabella 2. Coefficiente correttivo CF (*Duan's bias correction factor*) relativo alla *back-transformation* dalla forma logaritmica per ciascun dataset stratificato sulla base del regime idrologico

Stratificazione	Coefficiente correttivo CF
High flow (0-5% ex freq)	2,20
Normal flow (5,1-70%)	3,13
Low flow (70,1-100%)	1,24

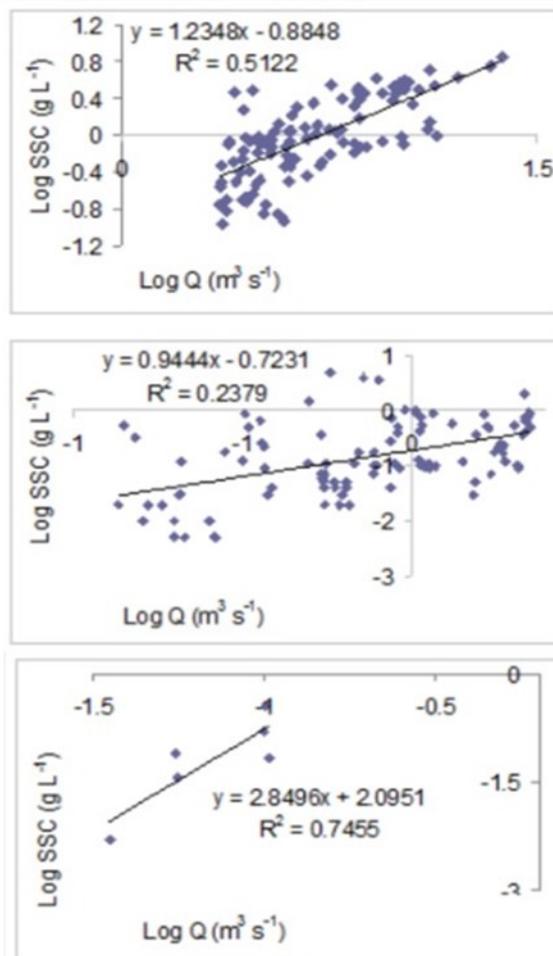


Figura 5 Sediment rating curve sviluppate per tre dataset: High flow in alto, normal flow al centro, low flow in basso

vamente alla scala annuale. Infine, i carichi specifici sono stati stimati in $2,61 \text{ t ha}^{-1} \text{ a}^{-1}$ e $6,06 \text{ t ha}^{-1} \text{ a}^{-1}$, senza e con il fattore correttivo, rispettivamente. Il valore reale del SS specifico è compreso in tale intervallo come dimostrato da De Girolamo et al. (2015). Tale risultato mostra che un ampio intervallo di incertezza è associato alla stima del carico di SS quando si dispone di dati discreti di SSC.

CONCLUSIONI

La tipologia di campionamento adottata (continua o discreta) e le metodologie utilizzate per stimare il carico di sedimenti che attraversa una sezione fluviale in un intervallo di tempo possono portare ad una elevata incertezza associata alla quantificazione del carico di solidi in sospensione. La relazione empirica tra SSC e Q definita *sediment rating curve* fornisce una sottostima delle effettive alte concentrazioni e una sovrastima delle effettive basse concentrazioni.

In questo lavoro, per migliorare la stima delle concentrazioni e carichi di SS, l'intero set di dati (Q, SSC) è stato suddiviso in sottoinsiemi sulla base del regime idrologico e per ciascuno dei dataset è stata sviluppata una *sediment rating curve*. Inoltre, è stato adottato un coefficiente correttivo CF per ridurre la sottostima di SSC generata dalla *back-transformation*. Applicando la stratificazione, il carico annuo specifico variava

da 261 t km⁻² a⁻¹ a 606 t km⁻² a⁻¹ senza e con l'introduzione del CF, rispettivamente. I risultati sono indicativi di un elevato tasso di erosione del suolo che richiederebbe misure ad hoc nelle aree montane e collinari per ridurre la perdita di suolo.

RINGRAZIAMENTI

Gli autori ringraziano Angelantonio Calabrese e Giuseppe Pappagallo per la collaborazione nelle attività di campo e per le analisi di laboratorio. Il lavoro è stato sviluppato nell'ambito del progetto MIRAGE (EU FP7; 211732).

BIBLIOGRAFIA

- APAT-IRSA-CNR, 2003. Metodi analitici per le acque, APAT Manuali e Linee Guida 29/ 2003. pp. 1–1153.
- DE GIROLAMO A.M., DI PILLO R., LO PORTO A., TODISCO M.T., BARCA E. 2018. Identifying a reliable method for estimating suspended sediment load in a temporary river system. *Catena* 165: 442-453. Doi: 10.1016/j.catena.2018.02.015.
- DE GIROLAMO A.M., PAPPAGALLO G., LO PORTO A. 2015. Temporal variability of suspended sediment transport and rating curves in a Mediterranean river basin: The Celone (SE Italy). *Catena* 128: 135-143.
- DE GIROLAMO A.M., SPANÒ M., D'AMBROSIO E., RICCI G.F., GENTILE F. 2019. Developing a nitrogen load apportionment tool: theory and application. *Agric. Water Manag.*, 226 (105806).
- DI PILLO R., DE GIROLAMO A.M., LO PORTO A., TODISCO M.T. 2023. Detecting the drivers of suspended sediment transport in an intermittent river: An event-based analysis. *CATENA* 222, 106881. Doi: 10.1016/j.catena.2022.106881.
- EC, 2020. Caring for Soil is Caring for Life. European Commission, 2020. doi: 10.2777/918775.
- FERREIRA C.S.S., SEIFOLLAHI-AGHMIUNI S., DESTOUNI G., GHAJARNIA N., KALANTARI Z. (2022). Soil degradation in the European Mediterranean region: processes, status and consequences. *Sci. Total Environ.*, 805 (150106).
- PANAGOS, P., BALLABIO, C., POESEN, J., LUGATO, E., SCARPA, L., MONTANARELLA, L., BORRELLI, P., 2020. A soil erosion indicator for supporting agricultural, environmental and climate policies in the European Union. *Remote Sens.* 12 (2020) 1365. doi: 10.3390/rs12091365.

Saggio acuto di sviluppo larvale con il copepode arparcticoide *Tigriopus fulvus*

a cura di

Ermelinda Prato (*), Isabella Parlapiano, Francesca Biandolino. *Istituto di Ricerca sulle Acque, Taranto*

RIASSUNTO

I possibili effetti dovuti all'immissione di singole (o miscele di) sostanze potenzialmente tossiche, possono essere valutati mediante saggi ecotossicologici di laboratorio. Il saggio ecotossicologico ha lo scopo di verificare se un campione ambientale causa un effetto deleterio significativo negli organismi test utilizzati. Il presente contributo riporta una dettagliata descrizione di un protocollo metodologico per la conduzione di saggi biologici con il copepode arparcticoide *Tigriopus fulvus*, specie molto diffusa nel Mar Mediterraneo. L'idoneità di questa specie nell'impiego nei saggi biologici è stata ampiamente valutata in diversi contesti ambientali. Gli organismi da utilizzare per il test devono essere in nauplii del I-II° stadio di sviluppo originatisi da una coltura di femmine sincronizzate. Sono riportate le metodologie di campionamento e allevamento di *T. fulvus* alle condizioni di laboratorio, nonché la metodologia per la conduzione del test di tossicità acuta sia con una matrice ambientale che con un tossico di riferimento (controllo positivo). I risultati dei saggi sono giudicati accettabili se al termine del periodo di esposizione la sopravvivenza degli organismi di controllo è $\geq 90\%$. I risultati possono essere espressi o come percentuale di individui morti o come valore di LC50, cioè come concentrazione della sostanza tossica che determina la morte del 50% degli individui impiegati nel test.

SUMMARY

The possible effects due to the introduction of single (or mixtures of) potentially toxic substances can be evaluated by means of laboratory ecotoxicological tests. The ecotoxicological test aims to verify if an environmental sample causes a significant deleterious effect in the test organisms. The present contribution reports a detailed description of a methodological protocol for conducting biological assays with the harparcticoid copepod *Tigriopus fulvus*, a very widespread species in the Mediterranean Sea. The suitability of this species for use in biological assays has been extensively evaluated in various environmental contexts. The organisms to be used for the test must be nauplii of the I-II° stage of development originating from a culture of synchronized females. The sampling and breeding methods of *T. fulvus* under laboratory conditions are reported, as well as the methodology for conducting the acute toxicity test both with an environmental matrix and with a reference toxicant (positive control). The results of the tests are judged acceptable if at the end of the exposure period the survival of the control organisms is $\geq 90\%$. The results can be expressed either as a percentage of dead individuals or as a LC50 value, i.e. as the concentration of the toxic substance which causes the death of 50% of the individuals used in the test.

1. INTRODUZIONE

L'ambiente acquatico è la destinazione finale della maggior parte dei contaminanti, sia di origine naturale che antropica, i quali possono provocare alterazioni alle risorse biologiche e al biota (Luoma 1989; Lee et al. 2000).

Gli organismi acquatici molto spesso risultano bersaglio dell'azione delle sostanze tossiche e possono fornire preziose informazioni per la valutazione del rischio, che non possono essere ottenute solo con l'approccio chimico (Chapman et al., 2010).

La stima dello "stato di salute" dell'ambiente marino viene realizzata sia valutando i livelli dei principali contaminanti ambientali antropici sia utilizzando test ecotossicologici con specie target autoctone appropriate (bioindicatori) come strumento diagnostico e/o prognostico della qualità ambientale.

I test ecotossicologici forniscono la prova diretta della tossicità esercitata dal contaminante sulle specie, misurando la risposta degli organismi dopo un'esposizione acuta o cronica.

Negli ultimi anni, molti studi si sono concentrati sull'identificazione di specie bioindicatrici idonee per sviluppare saggi biologici con protocolli di esposizione riproducibili e affidabili. La selezione di specie modello idonee è un passaggio cruciale, poiché esse devono presentare caratteristiche peculiari, ossia devono essere disponibili per l'uso durante tutto l'anno, geograficamente diffuse, abbondanti, facili da raccogliere e coltivare. Inoltre, le specie test devono essere abbastanza sensibili da rispondere a bassi livelli di contaminanti (Ross e Bidwell, 2001; Oliva et al., 2018).

Gli invertebrati marini contribuiscono in modo significativo alla valutazione dell'impatto ambientale dei contaminanti e la loro importanza negli ecosistemi ha portato ad un aumento dell'interesse del loro utilizzo come specie modello nei test di tossicità.

I copepodi marini sono piccoli invertebrati ecologicamente importanti e ampiamente distribuiti negli ecosistemi acquatici, essi offrono un'enorme opportunità come organismi modello per i test di tossicità. Rivestono un ruolo importante non solo nel trasferimento di energia nelle catene alimentari acquatiche, ma

* linda.prato@irsa.cnr.it



Figura 1. Adulto di *Tigriopus fulvus*

anche come mezzo di trasferimento di inquinanti attraverso i livelli trofici. La loro durata di vita, generalmente breve, consente lo studio degli effetti sulla *fitness* riproduttiva multigenerazionali delle sostanze tossiche.

Tigriopus fulvus (Fischer, 1860) ha un'ampia distribuzione lungo la costa europea, generalmente presente in pozze sopralitorali, situate all'interno delle coste rocciose, soggette ad ampie fluttuazioni stagionali delle condizioni ambientali (Bonello et al., 2018). Le discrete dimensioni (~ 1 mm di lunghezza), l'elevata abbondanza (fino a 5-6000 Ind./L) e la particolare colorazione rossastra, rendono questa specie facilmente riconoscibile e isolabile con molta facilità (Pane et al., 1996) (Fig. 1).

Tigriopus fulvus è stato ampiamente studiato per la riproduzione, il ciclo di vita, (Biandolino et al., 2018), l'ecologia (Pane et al., 1996) ed ecotossicologia. La sua affidabilità come specie modello per i test di ecotossicologia è stata ampiamente testata con diverse matrici ambientali (colonna d'acqua, acqua interstiziale, elutriati), e inquinanti nei confronti dei quali ha mostrato buona sensibilità e confermando ottime riproducibilità del saggio biologico (Farapanova et al., 2003, 2005, 2016; Mariani et al., 2006; Manfra et al., 2010; Prato et al., 2011, 2012, 2013, 2015, 2018; Tornambè et al., 2012).

Tigriopus fulvus è inserito tra le specie utilizzabili indicate per analisi ecotossicologiche (saggi biologici di tossicità) nel contesto della valutazione della qualità dei comparti ambientali D.M. 173/16, che disciplina l'autorizzazione alla immersione deliberata in mare dei sedimenti portuali

2. PRINCIPIO DEL METODO

Il saggio per la valutazione della tossicità acuta di acqua e estratti provenienti da ambienti marini e/o salmastri consente di identificare sorgenti di contaminazione capaci di provocare effetti tossici acuti nella specie test e permette di quantificare la potenziale tossicità mediante la stima della concentrazione letale in grado di determinare la morte del 50% degli organismi utilizzati nel test (LC_{50}) durante un dato tempo di esposizione. Il test acuto con *T. fulvus* è un test statico, per contatto diretto di neonati ottenuti da uova schiuse dopo 24h. Dopo un tempo di esposizio-

ne di 96h viene valutata la mortalità.

I risultati ottenibili da un saggio acuto costituiscono solitamente il primo passo nella valutazione del rischio per la vita acquatica. L'assenza di effetti acuti non preclude la possibilità di effetti cronici

3. CAMPIONAMENTO E CONDIZIONI DI ALLEVAMENTO

Il campionamento prevede l'utilizzo di un retino da plancton, generalmente di 200 μ m di maglia (tipo WP2). Lo zooplancton raccolto viene poi trasportato in laboratorio entro 1 - 2 h dalla raccolta, in contenitori refrigerati in cui la temperatura dell'acqua è mantenuta simile a quella del luogo di raccolta. Appena giunti in laboratorio si procede alla separazione delle specie (*sorting*). L'isolamento e l'identificazione morfologica di *T. fulvus* consente di procedere all'allevamento. Una coltura di *T. fulvus* è mantenuta nel laboratorio di ecotossicologia del CNR-IRSA di Taranto da diversi anni. Gli organismi sono allevati in acqua di mare filtrata con filtro G/F Wathman con porosità 0,45 μ m in fiasche per coltura in polistirene da 150 cm² (0,5 L) con tappo ventilato munito di membrana da 0,22 μ m (Fig. 2). Le fiasche di allevamento sono poste in una camera termostata a temperatura costante di 20 ± 2 °C, illuminata mediante lampade a luce fredda con luminosità di 500-1200 lux e con fotoperiodo di 16 ore di luce e 8 di buio. Gli animali vengono alimentati settimanalmente ad libitum con le alghe fitoplanctoniche *Tetraselmis suecica* e *Isochrysis galbana*. La dieta viene inoltre arricchita con il mangime per acquariologia Tetramarin® per favorire il mantenimento delle colture per lunghi periodi di tempo (Farapanova et al., 2003, 2005). Per ridurre l'imbreding periodicamente si provvede allo scambio di esemplari sia tra le diverse fiasche di allevamento del nostro laboratorio sia con esemplari allevati in altri laboratori del territorio nazionale.

4. SOLUZIONI E ORGANISMI TEST

4.1 Acqua

L'acqua utilizzata per la preparazione dei controlli positivi (con un tossico di riferimento), controlli negativi (con solo acqua di mare), delle soluzioni della so-



Figura 2. Fiasche di polistirene per l'allevamento di *T. fulvus*



Figura 3. *Tigriopus fulvus*: Femmina con sacco ovigero

stanza da sottoporre alla prova e per la raccolta e/o diluizione degli organismi, può essere sia acqua di mare naturale, prelevata da un'area lontana da impatti antropici, filtrata a $0,22 \mu\text{m}$ (FSW) e con salinità di 38 ‰ oppure può essere utilizzata un'acqua artificiale per escludere la presenza di contaminanti anche in traccia.

L'acqua marina artificiale è ottenuta sciogliendo una miscela commerciale di sali sintetici Instant Ocean® in acqua distillata così da ottenere una salinità pari a $38 \pm 1 \%$ e un pH pari a $8 \pm 0,1$. Il sale e l'acqua vengono posti per 24 ore su un agitatore magnetico fino a completa solubilizzazione. Trascorse le 24 ore l'acqua ottenuta viene filtrata con filtro G/F Wathman con porosità $0,22 \mu\text{m}$ e viene subito utilizzata, oppure può essere conservata a 4°C al buio; in questo caso prima dell'impiego viene fatta areare per una notte intera.

4.2 Soluzioni e terreni di coltura

I reagenti utilizzati per la preparazione delle soluzioni di prova e di controllo devono essere di grado analitico. Le soluzioni del tossico di riferimento (controllo positivo), utilizzate per verificare la sensibilità di *Tigriopus fulvus*, sono preparate a partire da soluzioni madri (1g/L). Il tossico di riferimento comunemente usato per il *T. fulvus* è il solfato di rame ($\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$).

L'uso di una sostanza tossica di riferimento è necessario per valutare in condizioni standard il potere discriminante della specie test in presenza di un tossico. Ciò permette di ottenere informazioni sulla precisione del metodo e sulla riproducibilità intralaboratorio, attraverso il confronto con apposite carte di controllo per garantire che venga stimato correttamente l'effetto misurato nel saggio.

Per la crescita delle alghe unicellulari da utilizzare come fonte alimentare dei copepodi è indicato il terreno di coltura f/2 Guillard (1975).

4.3 Organismi test

Lo sviluppo di *T. fulvus* si compie attraverso 12 stadi post-embryonici: 6 stadi naupliari (NI-NVI), 5 stadi di



Figura 4. Femmine ovigere poste su di un retino ($105 \mu\text{m}$) poggiato sul fondo di una piastra Petri

copepoditi (CI-CV) stadio adulto con la maturità sessuale (Itô, 1970).

Precedenti studi hanno dimostrato una maggiore sensibilità degli stadi naupliari rispetto agli adulti (Faraponova *et al.*, 2005) mostrando una ridotta variabilità dei risultati (Pane *et al.*, 2006a; 2006b; 2008). Per tale ragione i test sono condotti con nauplii appartenenti al NI e NII stadio di sviluppo partendo da una coltura sincronizzata, ossia 24 ore prima dell'allestimento dei test, vengono selezionate circa 300 femmine munite di sacchi ovigeri (Fig. 3). Le femmine ovigere sono poste su di un retino, di maglia $105 \mu\text{m}$, poggiato sul fondo di una piastra Petri parzialmente riempita con acqua di mare, in grado di permettere il passaggio dei nauplii appena schiusi nella piastra (Fig. 4). La coltura massiva di femmine così ottenuta viene alimentata con una miscela delle microalghe *Tetraselmis suecica* e *Isochrysis galbana* alla concentrazione di $1,5 \times 10^5$ e $3,0 \times 10^5$ cell/mL, rispettivamente e posta in ambiente termostato alle stesse condizioni dell'allevamento.

Dopo 24 - 48 ore si otterranno nauplii di età omogenea che verranno raccolti e utilizzati nei test di tossicità (Fig. 5).

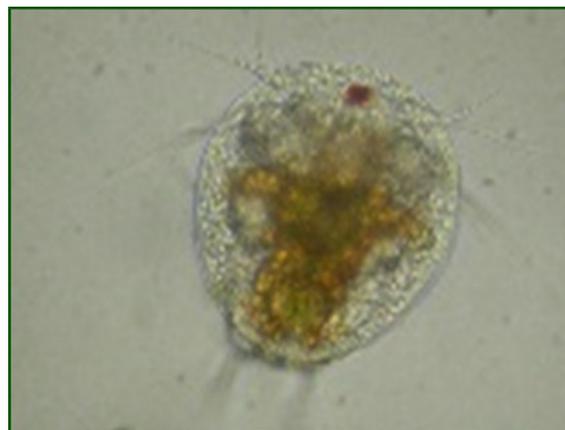


Figura 5. Nauplio di *Tigriopus fulvus*

5. STRUMENTAZIONE

In aggiunta alle usuali apparecchiature da laboratorio sono necessari:

- 5.1 Camera termostata 16 ± 2 °C;
- 5.2 Pompa a vuoto per la filtrazione dell'acqua;
- 5.3 Sistema di filtrazione a bicchiere per il filtraggio dell'acqua di mare;
- 5.4 Salinometro;
- 5.5 Termometro;
- 5.6 pH-metro;
- 5.7 Ossimetro;
- 5.8 Microscopio ottico (obiettivi 4x, 10x e 40x);
- 5.9 Micropipette automatiche e/o manuali graduate da 0,10 mL a 5,00 mL;
- 5.10 Stereomicroscopio per il controllo degli organismi, la conta del numero di naupli e copepoditi al termine del saggio;

6. MATERIALI

- 6.1 Fiasche di polistirene con tappo ventilato (250-500 mL)
- 6.2 Filtri da 0,22-0,45 µm in nitrocellulosa per la filtrazione dell'acqua di mare;
- 6.3 Spruzzetta con acqua di mare per la pulizia dei filtri (e recupero del materiale trattenuto dal filtro);
- 6.4 Carta bibula;
- 6.5 Setaccio in plastica con vuoto di maglia da 105 µm, per la coltura sincronizzata delle femmine ovigere;
- 6.6 Setaccio in plastica con vuoto di maglia da 80 µm, per la raccolta dei nauplii.
- 6.7 Pipette Pasteur in plastica inerte da 2 mL;
- 6.8 Pipette Pasteur in vetro 7 x 230 mm;
- 6.9 Palloncini in vetro borosilicato da 10, 50, 100 mL;
- 6.10 Filtro in nitrocellulosa con porosità di 0,22-0,45 µm;
- 6.11 Parafilm;
- 6.12 Piastre sterili multipozzetto (12 pozzetti) dotate di apposito coperchio e fondo sottile;
- 6.13 Capsule Petri di vetro.

7. PROTOCOLLO METODOLOGICO

7.1 Test di tossicità

Per l'esecuzione dei test devono essere allestite almeno 3 repliche per ognuno dei seguenti campioni:

- il controllo positivo, rappresentato da concentrazioni crescenti della sostanza tossica di riferimento;
- la matrice ambientale: acqua di mare, acqua interstiziale, elutriati, o altre soluzioni da testare.
- il controllo negativo: con sola acqua di mare (naturale o artificiale).

7.2 Attività pre-test: Raccolta dei nauplii

Dopo 24 ore, i nauplii sincronizzati (al I° e II° stadio di sviluppo) vengono prelevati dalla piastra Petri con una pipetta Pasteur mediante l'uso di uno stereomicroscopio a basso ingrandimento (10x). Il prelievo avviene facilmente, sfruttando la capacità che essi hanno di nuotare attivamente verso una fonte luminosa. Con una pipetta Pasteur vengono raccolti e trasferiti in piastre di risciacquo e da queste successivamente nei pozzetti di prova di piastre sterili multipozzetto per colture cellulari (Nest Biotech Co., Ltd).

7.3 Procedura del test acuto

Per l'allestimento del test acuto sono utilizzate piastre multipozzetto da 12 pozzetti. Per ogni pozzetto 10 nauplii sono esposti alla matrice da testare per un tempo pari a 96 h in ambiente controllato.

I test acuti sono condotti in assenza di alimento e senza rinnovo delle soluzioni (test statici). Gli organismi sono esposti inoltre ad un controllo negativo privo della sostanza test e a cinque concentrazioni scalari di solfato di rame (0,03 - 0,06 - 0,12 - 0,25 - 0,5 mgCu/L) (controllo positivo); per ogni trattamento e per il controllo sono effettuate 3 repliche contenenti ciascuna 10 nauplii in un volume di 3 mL di soluzione test.

Le soluzioni sono state preparate a partire da una soluzione madre di 10 mgCu/L.

I parametri di qualità dell'acqua (ossigeno disciolto, salinità e pH) sono misurati all'inizio e alla fine del test, per assicurare che tutte le repliche e i trattamenti siano nelle medesime condizioni. Inoltre per ridurre l'evaporazione della soluzione è consigliabile coprire i le piastre multipozzetto con l'apposito coperchio o con una pellicola.

7.4 Termine del test

Al termine del periodo di esposizione (96h) gli organismi morti sono contati allo stereoscopio. Il criterio per la definizione della mortalità è l'assenza di movimento delle appendici per un periodo di osservazione superiore ai 20 secondi sotto stimolazione luminosa e meccanica. Inoltre gli individui che non si ritrovano più nella camera test (*missing*) sono anch'essi considerati morti. I risultati sono espressi come % di mortalità.

7.5 Analisi dei dati

Sulla base del numero di individui morti rinvenuti nelle repliche sia del campione esaminato e sia nel controllo negativo (sola acqua di mare) si calcola la percentuale di mortalità media, la deviazione standard e il coefficiente di variazione (CV%).

La mortalità è espressa come mortalità di Abbott (Finney 1971), ossia al netto della percentuale di mortalità osservata nel controllo negativo.

$$Abbott = \frac{X - Y}{100 - Y} \cdot 100;$$

dove: X = % di effetto nel campione testato;

Y = % di effetto nel controllo.

In tal modo si ottiene una normalizzazione delle percentuali di effetto dovute alla sostanza tossica o al campione ambientale testato rispetto al controllo negativo; Il test t ($p < 0,05$) è utilizzato per verificare le differenze statistiche tra gli effetti nei controlli e trattamenti negativi.

I valori ottenuti consentiranno di procedere al calcolo della percentuale di mortalità media (con la deviazione standard) delle repliche effettuate per ogni campione. Il campione sarà considerato tossico se differisce significativamente dalla mortalità del controllo (t-test; $p < 0,05$).

Il calcolo dell'LC50 alle 96h viene effettuato con il metodo *Trimmed Spearman-Kärber Method* (TSK) (Hamilton *et al.*, 1977) che fornisce valori mediani di efficacia con i limiti fiduciali al 95%.

7.6 Validità del test

I risultati dei saggi sono giudicati accettabili se al termine del periodo di esposizione la sopravvivenza degli organismi di controllo è $\leq 10\%$ (Mariani *et al.*, 2006; UNICHIM 2396:2014, 2014). Nel caso in cui queste condizioni non siano rispettate è consigliabile ripetere la prova con altri esemplari.

La deviazione standard delle repliche di uno stesso campione non dovrebbe essere maggiore del 5 %. Se ciò dovesse accadere, è possibile scartare la replica che si discosta maggiormente dalla media.

Inoltre i risultati di ciascun campione vengono considerati validi se il coefficiente di variazione (CV%) è compreso tra 20 e 30% (Environment Canada, 1990). Per il calcolo del CV% viene usata la seguente formula:

$$CV\% = \frac{\text{Deviazione Standard}}{\text{media}} \cdot 100$$

7.7 Carte di controllo

E' consigliabile la conduzione periodica del controllo positivo, in condizioni standard, con il tossico di riferimento. Ciò permette di avere a disposizione delle carte di controllo per valutare l'affidabilità delle condizioni in cui è stato eseguito un saggio ecotossicologico, in quanto prevede la registrazione cronologica e grafica dei valori ottenuti e quelli della sua variabilità. Questa pratica fa sì che sia disponibile un'ampia serie di valori di LC50 del tossico prescelto, permettendo di verificare se la risposta di una specie test in un saggio di tossicità è confrontabile con quella normalmente riscontrata nei saggi dello stesso tipo effettuati in precedenza nello stesso laboratorio di prova con lo stesso protocollo metodologico (UNI ISO 7870,

2014).

In condizioni normali, il risultato di ogni nuovo saggio di riferimento dovrebbe collocarsi entro l'intervallo definito dal valore medio delle precedenti LC50 (media ± 2). Viceversa, se la LC50 del tossico di riferimento si colloca all'esterno di questo intervallo di sicurezza, tutti i dati ottenuti con il medesimo lotto di organismi e in quel periodo sperimentale dovrebbero essere considerati con cautela. La realizzazione delle carte di controllo è necessaria tanto per i controlli negativi che per i controlli positivi. Le carte di controllo relative ai controlli negativi consentono di verificare il rispetto dei criteri di validità spesso indicati dal metodo (ad esempio sopravvivenza minima nel controllo negativo in un saggio di tossicità letale). Le carte relative ai controlli positivi permettono di accertare che venga stimato correttamente l'effetto valutato dal saggio (ad esempio, la percentuale di effetto osservata per una determinata concentrazione di un tossico di riferimento).

Nei laboratori IRSA di Taranto, nell'arco di quattordici anni di attività (dal 2009 a 2023), è stato possibile costruire una carta di controllo di riferimento ottenuta da un dataset di 88 test di mortalità riferiti al controllo negativo e circa 40 valori di LC50 relativi al controllo positivo, determinati a 24 - 48 e 96 ore.

I dati organizzati in carte di controllo di tipo Shewhart (ISO, 1991), hanno mostrato una mortalità media (%) nei controlli negativi del 3,53%, ben al di sotto del limite di riferimento di $\leq 10\%$ con un basso livello di variabilità nel tempo dovuto al fatto che il 97,1% delle esecuzioni del test, rientrava nella media ± 2 SD.

La concentrazione letale (LC50) per il solfato di rame ha mostrato una media stabile di $0,67 \pm 0,12$ a 24 ore, $0,30 \pm 0,08$ a 48 ore e $0,12 \pm 0,05$ mgCu/L a 96 ore.

BIBLIOGRAFIA

CHAPMAN P.M., MCDONALD B.G., LAWRENCE G.S. (2010). Weight-of-Evidence Issues and Frameworks for Sediment Quality (And Other) Assessments. Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal, 8:7, 1489-1515.

ENVIRONMENT CANADA (1990). "Guidance document on control of toxicity test precision using reference toxicants"/ Prepared by Gary Seragy, Technology Development Branch. Environmental Protection Series EPS 1/RM/12. Environment Canada, Ottawa, 85 pp.

FARAPONOVA O., M.A. TODARO, F. ONORATI E M.G. FINOIA (2003). Sensibilità sesso ed età specifica di *Tigriopus fulvus* (Copepoda, Harpacticoida) nei confronti di due metalli pesanti (Cadmio e Rame). Bol. Mar. Medit., 10(2): 679-681.

FARAPONOVA O., DE PASCALE D., ONORATI F., FINOIA M. (2005). *Tigriopus fulvus* (Copepoda, Harpacticoida) as a target species in biological assays. Meiofauna Marina 14, 91-95.

- FARAPONOVA, O., GIACCO, E., BIANCOLINO, F., PRATO, E., DEL PRETE, F., VALENTI, A., SARCINA, S., PASTERIS, A., MONTECAVALLI, A., COMIN, S., CESCICA, C., FRANCESE, M., CIGAR, M., PIAZZA, V., FALLEN, F., LACCHETTI, I. (2016). *Tigriopus fulvus*: the interlaboratory comparison of the acute toxicity test. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 124, 309–314.
- ITÔ, T. (1970). The biology of a harpacticoid copepod, *Tigriopus japonicus* Mori. *J. Fac. Sci. Hokkaido Univ.* 17 (3), 474–500.
- GUILLARD, R.R. (1975). Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrate animals. In: Smith, W.L., Chanley, M.H. (Eds.), *Culture of Marine Invertebrate Animals*. Plenum, New York, pp. 29–60.
- HAMILTON M.A., RUSSO R.C., THURSTON, R.V. (1977): "Trimmed Spearman-Kärber method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays", *Environ. Sci. Tech.*, 11, 714–719.
- ISO (International organization for standardization) (1991). *Shewhart control charts*. ISO 8258:1991.
- LEE, B.-G., GRISCOM, S.B., LEE, J.-S., CHOI, H.J., KOH, C.-H., LUOMA, S.N., FISHER, N.S. (2000). Influences of dietary uptake and reactive sulfides on metal bioavailability from aquatic sediments. *Science* 287, 282–284.
- LUOMA S.N. (1983). Bioavailability of trace metals to aquatic organisms – a review. *Sci. Total Environ.*, 28, 1–22.
- PANE L., FELETTI M., CARLI A.M. (1996). Fattori ambientali e fluttuazioni della popolazione del copepode *Tigriopus fulvus* delle pozze di scogliera di Genova-Nervi (Mar Ligure). *Atti S.It.E.*, 17:317-20.
- MANFRA, L., MAGGI, C., BIANCHI, J., MANNOZZI, M., FARAPONOVA, O., ONORATI, F., ET AL. (2010). Toxicity evaluation of produced formation waters after filtration treatment. *Nat. Sci.* 2 (1), 33–40.
- MARIANI, L., DE PASCALE, D., FARAPONOVA, O., TORNAMBÈ, A., SARNI, A., GIULIANI, S., RUGGIERO, G., ONORATI, F., MAGALETTI, E. (2006). The use of a battery test in marine ecotoxicology: the acute toxicity of sodium dodecyl sulfate. *Environ. Toxicol.* 21, 373–379.
- OLIVA M. , MENNILLO E. , BARBAGLIA M. , MONNI G., TARDELLI F., CASU V. , PRETTI C. (2018). The serpulid *Ficopomatus enigmaticus* (Fauvel, 1923) as candidate organisms for ecotoxicological assays in brackish and marine waters. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 148, 1096-1103
- PRATO E., BIANCOLINO F., BISI A. P., CAROPPO C., (2011). Preliminary assessment of *Ostreopsis* cfr. *ovata* acute toxicity by using a battery bioassay. *Chemistry and Ecology*, 27, 117–125..
- PRATO, E., PARLAPIANO, I., BIANCOLINO, F. (2012). Evaluation of a battery bioassay for ecotoxicological screening of marine sediments. *Environ. Monit. Assess.* 9, 5225–5238.
- PRATO, E., PARLAPIANO, I., BIANCOLINO, F. (2013). Assessment of individual and combined toxicities of three metals (Cu, Cd and Hg) by using *Tigriopus fulvus*. *Chem. Ecol.* 29 (7), 635–642.
- PRATO, E., PARLAPIANO, I., BIANCOLINO, F. (2015). Ecotoxicological evaluation of sediments by battery bioassays: application and comparison of two integrated classification systems. *Chem. Ecol.* 31 (7), 6612–6678.
- PRATO E., PARLAPIANO I., BIANCOLINO F., ROTINI A., MANFRA L., BERDUCCI M.T., MAGGI C., LIBRALATO G., PADUANO L., CARRATURO F. (2019). Chronic sublethal effects of ZnO nanoparticles on *Tigriopus fulvus* (Copepoda, Harpacticoida). *Environmental Science and Pollution Research*, 1-12.
- ROSS, K.E., BIDWELL J.R. (2001). A 48-h larval development toxicity test using the marine polychaete *Galeolaria caespitosa* Lamarck (Fam. Serpulidae). *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 40, 489-496.
- TORNAMBÈ, A., MANFRA, L., MARIANI, L., FARAPONOVA, O., ONORATI, F., SAVORELLI, F., CICERO, A.M., VIRNO LAMBERTI, C., MAGALETTI, E. (2012). Toxicity evaluation of diethylene glycol and its combined effects with produced waters of off-shore gas platforms in the Adriatic Sea (Italy): bioassays with marine/estuarine species. *Mar. Environ. Res.* 77, 141–149.
- UNICHIM 2396:2014 (2014). Qualità dell'acqua – Determinazione della tossicità letale a 24 h, 48 h e 96 h di esposizione con naupli di *Tigriopus fulvus* (Fischer, 1860) (Crustacea: Copepoda). Protocol M.U. 2396: 14.

Ottimizzazione di una metodica analitica per la determinazione di polibromodifenileteri (PBDE) in sedimenti marini mediante estrazione liquida pressurizzata (PLE) e analisi in GC-MS

a cura di

S. Giansiracusa, *Università Ca' Foscari, Dipartimento Scienze Ambientali, Venezia*

Tanita Pescatore (*), Francesca Spataro, Jasmin Rauseo, Luisa Patrolecco, *Istituto Scienze Polari - CNR, Montelibretti (RM)*

RIASSUNTO

Nel presente contributo viene descritta la messa a punto di una metodica analitica per la determinazione dei polibromodifenileteri (PBDE) in matrici solide ambientali. I PBDE sono composti antropogenici principalmente usati come ritardanti di fiamma in un'ampia gamma di prodotti di sintesi industriale. Sono classificati come persistenti e bioaccumulabili, con potenziali effetti nocivi sugli ecosistemi e sull'uomo. La metodica analitica presentata prevede una fase di estrazione pressurizzata con solventi (PLE) e la determinazione analitica tramite gas cromatografia accoppiata alla spettrometria di massa (GC-MS). Il metodo ottimizzato è stato applicato alla determinazione delle concentrazioni di PBDE in campioni di sedimento marino raccolti tramite carotatore in un fiordo delle isole Svalbard, Norvegia artica.

SUMMARY

This contribution describes the development of an analytical method for the determination of polybromodiphenyl ethers (PBDEs) in solid environmental matrices. PBDEs are anthropogenic compounds mainly used as flame retardants in a wide range of industrial synthetic products. These compounds are classified as persistent and bioaccumulative, with potential harmful effects on ecosystems and humans. The analytical method presented involves a pressurized liquid extraction step (PLE) and the analytical determination by gas chromatography coupled with mass spectrometry (GC-MS). The optimized method was applied to the determination of PBDE concentrations in marine sediment samples collected by sediment-corer in a fjord of the Svalbard Islands, Arctic Norway.

1. INTRODUZIONE

I polibromodifenileteri (PBDE) sono composti di sintesi appartenenti alla classe dei ritardanti di fiamma utilizzati in un'ampia gamma di materiali, quali materiali plastici, rivestimenti per mobili, prodotti di tappezzeria, tessuti, apparecchiature elettriche, dispositivi elettronici, ecc., per ridurre l'inflammabilità e inibire la combustione (EPA, 2017).

I PBDE sono idrocarburi aromatici alogenati, caratterizzati dalla presenza di atomi di bromo (da 1 a 10) legati ad un doppio anello aromatico (difenile), congiunti a loro volta da un atomo di ossigeno a formare un ponte etero (Figura 1).

A seconda del numero di atomi di bromo sostituenti presenti ed in base alla loro posizione, è possibile ottenere 209 strutture uniche (congeneri). I congeneri con lo stesso numero di atomi di bromo sono definiti omologhi e sono divisi in dieci gruppi (da mono a deca) (Tabella 1).

I PBDE sono stati introdotti sul mercato a partire dagli anni '60 con lo sviluppo dell'industria della chimica organica di sintesi e la loro richiesta è cresciuta rapidamente fino alla fine degli anni '90, anche in risposta alla messa a bando dei policlorobifenili

(PCBs). Dal punto di vista della produzione industriale, sono tre le formulazioni commerciali significative: DE-71 (c-pentaBDE), DE-79 (c-ottaBDE) e DE-83 (c-decaBDE). La miscela c-pentaBDE contiene principalmente congeneri tetra- (BDE-47), penta- (BDE-99, -100) e esaBDE (BDE-153, -154); la miscela c-ottaBDE contiene principalmente un eptaBDE (BDE-183) più esa- (BDE-153, -154) e ottaBDE; la miscela c-decaBDE consiste principalmente nel BDE-209 (de Wit et al., 2010) ed è la più utilizzata a livello globale (EPA, 2017).

Tra le principali fonti di immissione rientrano i processi di produzione, la volatilizzazione dai prodotti che li contengono, nonché dal percolato dei siti di smaltimento e di riciclaggio (EPA, 2017). In particolare, i PBDE a basso contenuto di bromo (da tetra- a eptaPBDE), più solubili in acqua (13,3 µg/L da tetra- a eptaPBDE, <1 µg/L per otta- e deca-PBDE) (EPA, 2017) hanno una maggiore propensione alla volatilizzazione e al trasporto atmosferico a lungo raggio. Al contrario, i congeneri più altamente bromurati sono meno volatili e tendono a depositarsi (Wania and Dugani, 2003).

Il largo utilizzo di prodotti contenenti PBDE e le loro modalità di dispersione hanno reso questi composti ubiquitari nell'ambiente, le cui concentrazioni sono

*tanita.pescatore@isp.cnr.it

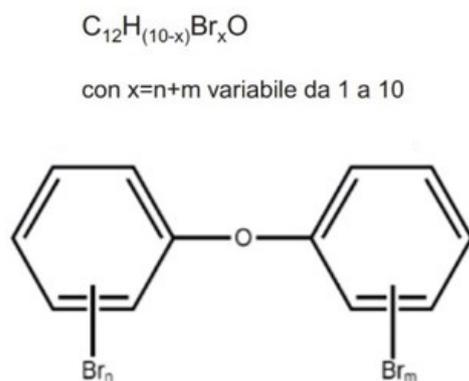


Figura 1. Struttura generica dei PBDE

aumentate in maniera considerevole negli anni, anche in seguito al depauperamento e allo smaltimento di prodotti elettronici obsoleti (i cosiddetti “rifiuti elettronici”) (Da et al., 2019). Per le loro caratteristiche chimico-fisiche e gli effetti sugli ecosistemi, i PBDE sono stati classificati come persistenti, bioaccumulabili, tossici secondo la Direttiva Quadro sulle Acque (WFD, 2000/60/CE), ritenuti interferenti endocrini, e sono regolati come *Persistent Organic Pollutants* (POPs) dalla Convenzione di Stoccolma (Swart et al., 2016). I composti specifici tetra-, penta-, esa- ed eptaPBDE, anch'essi componenti delle miscele c-pentaPBDE e c-ottaPBDE, sono stati inseriti nella Direttiva sugli Standard di Qualità Ambientale (2013/39/UE).

Data la loro elevata idrofobicità, ($\log K_{ow}$: 6,64-6,97 da tetra- a eptaPBDE; 6,29 per otta-PBDE; 6,265 per deca-PBDE) (EPA, 2017), una volta immessi nell'ambiente acquatico, vanno incontro a processi di assorbimento/adsorbimento sul particolato in sospensione ricco di sostanza organica, depositandosi e accumulandosi successivamente nel sedimento (Cai et al., 2012). Nelle acque marine, sono stati riportati valori di concentrazione di PBDE compresi nell'intervallo 0,06-0,34 ng/L (Kim et al., 2012), mentre nei sedimenti superficiali sono stati riscontrati valori di PBDE molto variabili, che rientrano in un ampio intervallo di concentrazioni comprese tra 3,58 a 5240 pg/g (Cai et al., 2012, Mai et al., 2005). Chiaramente la distri-

buzione di questi contaminanti nelle diverse matrici ambientali può essere controllata da vari fattori climatico-ambientali, tra cui la vicinanza alle fonti di immissione, i meccanismi di trasporto (atmosfera, correnti marine etc.) ed i processi di ripartizione tra fase particolata e fase disciolta (de Wit et al., 2010). I sedimenti marini costituiscono un importante *sink*, cioè recettore finale di accumulo, per i contaminanti idrofobici, e possono al contempo rappresentare una fonte secondaria di rilascio di contaminanti (ad es. attraverso fenomeni di risospensione, bioturbazione etc.), influenzandone notevolmente il destino nell'ambiente acquatico.

Ad oggi, pochi studi sono stati condotti sui PBDE negli ecosistemi marini artici, e ancor meno sul sedimento marino profondo, in gran parte a causa delle difficoltà di campionamento. Analisi effettuate su sedimenti marini superficiali, raccolti in diverse aree artiche, evidenziano intervalli di concentrazione di PBDE molto variabili: 4,55-19,67 pg/g nel Mare di Bering (Cai et al., 2012); 3,58-148,95 pg/g nel Bacino canadese (Cai et al., 2012); 56-600 pg/g (Jiao et al., 2009) e 5520-21000 pg/g (Carlsson et al., 2018) nell'arcipelago delle Svalbard, suggerendo il ruolo del trasporto a lungo raggio dalle zone di produzione ed utilizzo di tali contaminanti fino alle remote regioni Artiche.

Le indagini ambientali focalizzate su carote di sedimento marino possono fornire informazioni utili ai fini della valutazione delle variazioni storiche delle concentrazioni di PBDE e delle loro dinamiche di diffusione e accumulo.

L'obiettivo di questo lavoro è la messa a punto di una metodica analitica per la determinazione dei PBDE in matrici solide ambientali, a partire da una ricognizione di metodi presenti in letteratura (Da et al., 2019, Carlsson et al., 2018). Nello specifico, il metodo intende ottimizzare i parametri di estrazione dei composti dal sedimento marino per accrescere l'efficienza di recupero e la riproducibilità; parallelamente, le condizioni operative per la determinazione qualitativa/quantitativa dei PBDE tramite gascromatografia accoppiata alla spettrometria di massa (GC-MS) vengono valutate ed ottimizzate per diminuire le interferenze di matrice e aumentare la sensibilità strumentale. Infine, il metodo ottimizzato viene applicato a campioni reali di sedimento marino artico per la determina-

Tabella 1. Proprietà chimiche dei PBDE

Formula bruta	Nome	Numero isomeri	Numero IUPAC	Massa molecolare (g/mol)
$C_{12}H_9BrO$	Mono-BDE	3	1-3	248,97
$C_{12}H_8Br_2O$	Di-BDE	12	4-15	327,87
$C_{12}H_7Br_3O$	Tri-BDE	24	16-39	406,77
$C_{12}H_6Br_4O$	Tetra-BDE	42	40-81	485,66
$C_{12}H_5Br_5O$	Penta-BDE	46	82-127	564,56
$C_{12}H_4Br_6O$	Esa-BDE	42	128-169	643,45
$C_{12}H_3Br_7O$	Epta-BDE	24	170-193	722,35
$C_{12}H_2Br_8O$	Otta-BDE	12	194-205	801,25
$C_{12}H_1Br_9O$	Nona-BDE	3	206-208	880,14
$C_{12}Br_{10}O$	Deca-BDE	1	209	959,04

Tabella 2. Congeneri contenuti all'interno dello Standard NIST SMR 2257

Nome IUPAC	Nome del composto	Numero di registrazione CAS	Frazione di massa ($\mu\text{g/g}$)
PBDE 17	2,2',4-Tribromodifeniletere	147217-75-2	5,87 \pm 0,35
PBDE 25	2,3',4-Tribromodifeniletere	147217-77-4	3,19 \pm 0,39
PBDE 28	2,4,4'-Tribromodipenylether	41318-75-6	1,88 \pm 0,14
PBDE 30	2,4,6-Tribromodifeniletere	N/A	3,08 \pm 0,10
PBDE 47	2,2',4,4'-Tetrabromodifeniletere	5436-43-1	2,09 \pm 0,16
PBDE 49	2,2',4,5'-Tetrabromodifeniletere	243982-82-3	3,95 \pm 0,31
PBDE 66	2,3',4,4'-Tetrabromodifeniletere	189084-61-5	2,162 \pm 0,089
PBDE 71	2,3',4',6-Tetrabromodifeniletere	189084-62-6	2,86 \pm 0,10
PBDE 74	2,4,4',5-Tetrabromodifeniletere	N/A	3,56 \pm 0,10
PBDE 75	2,4,4',6-Tetrabromodifeniletere	189084-63-7	3,45 \pm 0,15
PBDE 85	2,2',3,4,4'-Pentabromodifeniletere	182346-21-0	3,359 \pm 0,092
PBDE 97 + 118	2,2',3',4,5-Pentabromodifeniletere + 2,3',4,4',5-Pentabromodifeniletere	N/A	5,29 \pm 0,19
PBDE 99	2,2',4,4',5-Pentabromodifeniletere	60348-60-9	2,127 \pm 0,090
PBDE 100	2,2',4,4',6-Pentabromodifeniletere	189084-64-8	3,05 \pm 0,15
PBDE 101	2,2',4,5,5'-Pentabromodifeniletere	N/A	3,784 \pm 0,080
PBDE 116	2,3,4,5,6-Pentabromodifeniletere	N/A	3,042 \pm 0,067
PBDE 119	2,3',4,4',6-Pentabromodifeniletere	189084-66-0	4,11 \pm 0,14
PBDE 138	2,2',3,4,4',5'-Esabromodifeniletere	182677-30-1	2,522 \pm 0,053
PBDE 139	2,2',3,4,4',6-Esabromodifeniletere	N/A	3,514 \pm 0,082
PBDE 153	2,2',4,4',5,5'-Esabromodifeniletere	68631-49-2	2,048 \pm 0,068
PBDE 154	2,2',4,4',5,6'-Esabromodifeniletere	207122-15-4	1,622 \pm 0,057
PBDE 155	2,2',4,4',6,6'-Esabromodifeniletere	35854-94-5	0,895 \pm 0,026
PBDE 156	2,3,3',4,4',5-Esabromodifeniletere	N/A	2,77 \pm 0,13
PBDE 173 + 190	2,2',3,3',4,5,6-Eptabromodifeniletere + 2,3,3',4,4',5,6-Eptabromodifeniletere	N/A 189084-68-2	3,01 \pm 0,13
PBDE 181	2,2',3,4,4',5,6-Eptabromodifeniletere	189084-67-1	2,859 \pm 0,079
PBDE 182	2,2',3,4,4',5,6'-Eptabromodifeniletere	N/A	1,502 \pm 0,060
PBDE 183	2,2',3,4,4',5',6-Eptabromodifeniletere	207122-16-5	2,183 \pm 0,049
PBDE 185	2,2',3,4,5,5',6-Eptabromodifeniletere	N/A	2,37 \pm 0,18
PBDE 191	2,3,3',4,4',5',6-Eptabromodifeniletere	N/A	2,085 \pm 0,055
PBDE 196	2,2',3,3',4,4',5,6'-Ottabromodifeniletere	N/A	2,46 \pm 0,11
PBDE 197 + 204	2,2',3,3',4,4',6,6'-Ottabromodifeniletere + 2,2',3,4,4',5,6,6'-Ottabromodifeniletere	N/A	2,823 \pm 0,070
PBDE 198	2,2',3,3',4,5,5',6-Ottabromodifeniletere	N/A	1,898 \pm 0,057
PBDE 203	2,2',3,4,4',5,5',6-Ottabromodifeniletere	N/A	1,373 \pm 0,034
PBDE 206	2,2',3,3',4,4',5,5',6-Nonabromodifeniletere	N/A	1,982 \pm 0,063
PBDE 208	2,2',3,3',4,5,5',6,6'-Nonabromodifeniletere	N/A	1,108 \pm 0,026

zione delle concentrazioni di PBDE.

2. PRINCIPIO DEL METODO

Il metodo di seguito riportato è stato sviluppato per la determinazione quantitativa di 38 congeneri PBDE (Tabella 2) da matrici ambientali solide, nello specifico da sedimenti marini. L'estrazione degli analiti dai campioni di sedimento, precedentemente liofilizzati, è stata realizzata utilizzando la tecnica di estrazione liquida pressurizzata con solventi (PLE), un sistema automatizzato per estrarre composti organici di varia natura da matrice solida, dove è possibile variare parametri quali temperatura, numero di cicli di estrazione e tempo statico, al fine di aumentare l'efficienza del processo estrattivo. Inoltre, rispetto ad altre tecniche convenzionali (es. Soxhlet), il vantaggio della tecnica PLE risiede nella riduzione delle interferenze e nel consumo ridotto di solventi. La quantificazione degli analiti è stata effettuata mediante GC-MS.

3. APPARECCHIATURE E REAGENTI

- 3.1 Sistema di estrazione PLE (Speed Extractor E-916 system, Buchi, Italia);
- 3.2 Celle di estrazione PLE in acciaio inossidabile, volume 40 mL;
- 3.3 Filtri di cellulosa per celle di estrazione PLE da 1-2 cm;
- 3.4 Sistema di evaporazione (Syncore, Buchi, Italia);
- 3.5 GC-MS:
 - 3.5.1 Sistema gas cromatografico (Thermo Fisher Trace 3000);
 - 3.5.2 Spettrometro di massa a singolo quadrupolo (Thermo Fisher ISQ7000);
- 3.6 Colonna cromatografica capillare a silice fusa (ZB-5HT Inferno, 15m x 0.25mm x 0.10µm, Phenomenex, Francia);
- 3.7 Bilancia analitica (Mettler Toledo, modello XPE105);
- 3.8 n-Esano grado HPLC (VWR);

- 3.9 Acetone grado HPLC (VWR);
- 3.10 Standard NIST SRM 2257, miscela di 38 congeneri PBDE in 2,2,4-trimetilpentano con concentrazione totale di 100 µg/g corrispondente a 69 mg/L;
- 3.11 Standard interno marcato 13C-PBDE-47 purezza 99%;
- 3.12 Standard interno marcato 13C-PBDE-183 purezza 99%;
- 3.13 Terra di diatomee (Thermo Scientific).

4. METODO

4.1 Estrazione dei PBDE da matrice solida

Per l'estrazione dei PBDE da campioni solidi mediante metodo PLE (3.1) sono stati pesati circa 1,5 grammi di sedimento marino liofilizzato, che sono stati quindi omogeneizzati con materiale inerte (3.13). Le celle di estrazione (3.2) sono state impaccate come segue:

1. Filtro di cellulosa dal diametro di 1 cm (3.3);
2. 1,5 g di sedimento omogeneizzato con terra di diatomee;
3. Terra di diatomee fino a riempire la cella (3.13);
4. Filtro di cellulosa dal diametro di 2 cm (3.3)

L'estrazione PLE è stata effettuata utilizzando come solvente l'esano (3.8), la temperatura è stata imposta a 100 °C e la pressione a 1500 psi; il tempo statico, ossia il tempo di estrazione in cui la cella è riscaldata ma non c'è il flusso del solvente, è stato pari a 5 minuti ed i cicli di estrazione sono stati 3. Gli estratti così ottenuti (circa 60 mL) non hanno richiesto un'ulteriore purificazione, sono stati evaporati fino a raggiungere un volume finale di 1 mL, e successivamente analizzati al GC-MS (3.5).

4.2 Analisi gas-cromatografica

L'identificazione dei composti in esame e la successiva quantificazione è stata effettuata mediante un gascromatografo accoppiato ad uno spettrometro di

Tabella 3. Condizioni operative GC-MS

Iniettore		Modalità Splitless	
Gas di trasporto Flusso (mL/min)		Elio 1,2	
Volume iniettato (µL)		1	
Spettrometro di massa			
Temperatura sorgente (°C)		280	
Temperatura transfer line (°C)		320	
Rampa di temperatura			
Velocità di riscaldamento (°C/min)	Temperatura target (°C)	Tempo di mantenimento (min)	
-	60	2	
15	280	2	
15	360	10	

massa a singolo quadrupolo (GC-MS; 35), equipaggiato con una colonna capillare in silice fusa con fase stazionaria (5%) fenil- (95%) dimetilpolisilossano adatta alle alte temperature (ZB-5HT Inferno, 15m x 0,25mm x 0,10µm) (3.6). Come *carrier gas* si è utilizzato elio ultrapuro ad un flusso costante di 1,2 mL/min. La separazione cromatografica dei composti è stata effettuata grazie ad un programma di temperatura per la quale si vede un aumento graduale e progressivo che permette la separazione selettiva dei 38

congeneri presenti nella miscela dello standard (3.10). La temperatura della transfer line e della sorgente sono state impostate a 320 °C e 280 °C rispettivamente.

Per raggiungere le condizioni ottimali sono state effettuate diverse corse cromatografiche modificando la programmata della temperatura, variando sia la velocità di aumento di temperatura (°C/min) sia la temperatura target in modo da massimizzare la risoluzione dei picchi. Per il controllo dello strumento è stato

Tabella 4. Congenere, tempo di ritenzione (TR) e ioni MS usati per la quantificazione e qualificazione

Congenere	TR (min)	Ioni MS per la quantificazione (m/z)	Ioni MS per la qualificazione (m/z)	
PBDE 17	11,055	246	139	406
PBDE 25	11,626	246	139	406
PBDE 28	11,821	246	139	406
PBDE 30	11,962	246	139	406
PBDE 47	12,862	326	486	217
PBDE 49	12,977	326	486	217
PBDE 71	13,027	326	486	217
PBDE 66	13,197	326	486	217
PBDE 74	13,272	326	486	217
PBDE 75	13,377	326	486	217
PBDE 99	14,185	404	406	564
PBDE 85	14,245	404	406	564
PBDE 97+118	14,282	404	406	564
PBDE 100	14,467	404	406	564
PBDE 101	14,567	404	406	564
PBDE 116	14,960	404	564	297
PBDE 119	15,125	404	564	297
PBDE 138	15,240	484	644	242
PBDE 139	15,766	484	644	242
PBDE 153	16,112	484	644	242
PBDE 154	16,302	484	644	242
PBDE 155	16,438	484	644	242
PBDE 156	16,525	484	644	242
PBDE 173+190	16,702	562	724	282
PBDE 182	16,782	562	724	282
PBDE 181	16,832	562	724	282
PBDE 183	17,000	562	724	282
PBDE 185	17,204	562	724	282
PBDE 191	17,240	562	724	282
PBDE 196	17,594	642	802	152
PBDE 197+204	17,787	642	802	152
PBDE 198	18,377	642	800	320
PBDE 203	18,382	642	802	141
PBDE 206	18,867	642	802	321
PBDE 208	18,879	720	880	360

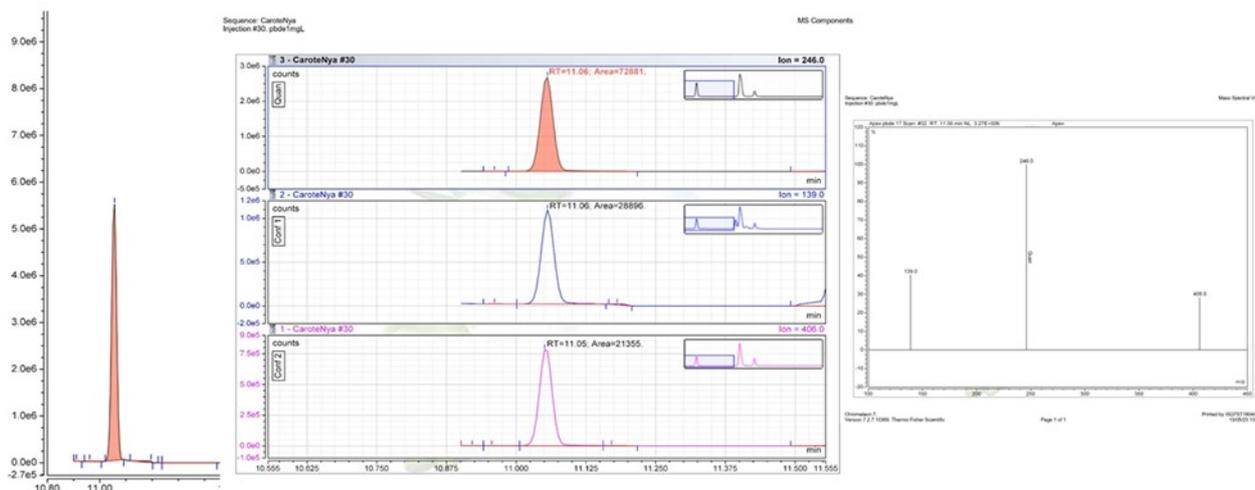


Figura 2. Esempio di elaborazione dati e identificazione di un congenere (PBDE17) in base al tempo di ritenzione e agli ioni MS per la quantificazione (Quan.) e la qualificazione (Conf.)

utilizzato il programma “Chromleon 7” di Thermo Fisher (Versione 7.2.7). Le condizioni operative ottimali sono riportate in Tabella 3.

Per quanto riguarda l’identificazione dei congeneri e dei relativi tempi di ritenzione è stata inizialmente effettuata l’acquisizione in modalità scansione totale (Full Scan). Una volta identificati i congeneri e i relativi tempi di ritenzione, per la calibrazione e la quantificazione gli ioni di massa sono stati monitorati lavorando in modalità di acquisizione SIM (Selected Ion Monitoring; Figura 2), utilizzando per la qualificazione e la quantificazione gli ioni elencati in Tabella 4. Gli ioni MS usati per la quantificazione e qualificazione ed i tempi di ritenzione (considerando per questi ultimi una variabilità inferiore a 0,2 min) dei singoli congeneri determinati nelle soluzioni standard e negli estratti dei campioni sono stati confrontati per la determinazione della concentrazione analitica dei composti di interesse.

5. VALIDAZIONE DEL METODO

5.1 Quantificazione, curve di calibrazione e limite di rilevabilità

Per la quantificazione dei PBDE sono state ottenute due curve di calibrazione analizzando soluzioni standard a differenti intervalli di concentrazione. Tutte le soluzioni sono state preparate in esano (3.8) per dilui-

zione da una soluzione madre di PBDE, contenente tutti i congeneri in esame (Tabella 2), avente concentrazione iniziale di 4,14 mg/L. Le due curve di calibrazione sono state realizzate nei seguenti intervalli di concentrazione: 2,5; 5; 10; 25; 50 µg/L e 0,1; 0,25; 0,5; 1 e 1,5 mg/L.

La buona linearità è stata confermata dai coefficienti di correlazione (R²) delle curve di calibrazione ottenute per i singoli congeneri, compresi tra 0,9683 e 0,9999. In Figura 3 vengono riportate a titolo di esempio le curve di calibrazione dei congeneri PBDE 49 e PBDE 100.

Al fine di minimizzare gli effetti di soppressione o incremento del segnale di spettrometria di massa dovuto ad interferenze di matrice, sono stati utilizzati composti marcati con isotopi stabili come standard interni (3.11 e 3.12), che sono stati aggiunti sia alle soluzioni standard che agli estratti preliminarmente all’analisi in GC, fino a raggiungere una concentrazione finale di 5 µg/L.

La riproducibilità del metodo è stata espressa come coefficiente di variazione (CV, %) calcolato dai risultati di analisi effettuate in triplicato di soluzioni standard addizionate con standard interni ed era sempre <10%.

I limiti di rilevabilità (LOD) sono stati calcolati in accordo con il metodo IUPAC (Thompson et al., 2002), dal-

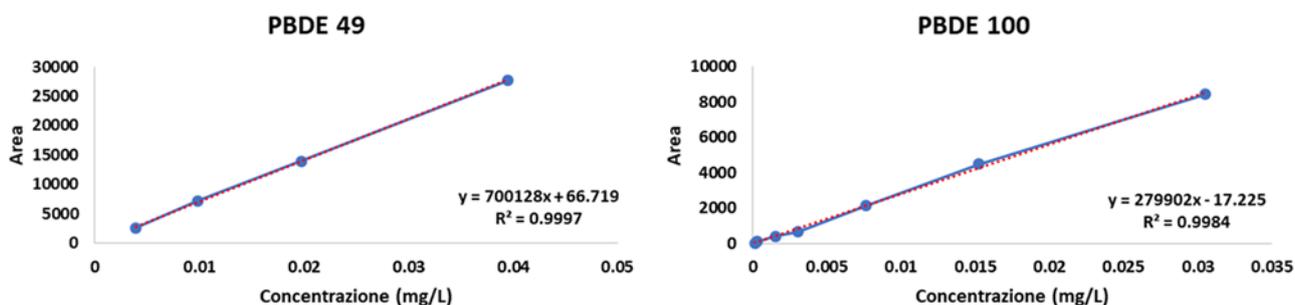


Figura 3. Esempio di curve di calibrazione di due congeneri PBDE (PBDE 49 e PBDE 100) e coefficiente di correlazione (R²)

Tabella 5. LOD (ng/g), LOQ (ng/g), concentrazione teorica utilizzata per le tre prove di recupero, recupero medio (± RSD) e CV (%) relativo ai singoli congeneri analizzati

Congenere	LOD (ng/g)	LOQ (ng/g)	Prove di recupero				CV (%)
			Concentrazione Teorica dei PBDE nel sedimento			Recupero medio (±RSD)	
			Prova 1 (µg/g)	Prova 2 (µg/g)	Prova 3 (µg/g)		
PBDE 17	0,002	0,006	0,015	0,030	0,088	65 ± 3	8
PBDE 25	0,001	0,003	0,008	0,017	0,048	67 ± 4	6
PBDE 28	0,002	0,006	0,005	0,010	0,028	84 ± 2	9
PBDE 30	0,002	0,006	0,008	0,016	0,046	86 ± 3	9
PBDE 47	0,003	0,009	0,005	0,011	0,031	82 ± 7	8
PBDE 49	0,004	0,012	0,010	0,020	0,059	83 ± 6	9
PBDE 71	0,005	0,015	0,007	0,015	0,043	80 ± 8	9
PBDE 66	0,004	0,012	0,006	0,011	0,032	87 ± 8	4
PBDE 74	0,006	0,018	0,009	0,018	0,053	84 ± 5	6
PBDE 75	0,011	0,033	0,009	0,018	0,052	82 ± 3	6
PBDE 99	0,007	0,021	0,006	0,011	0,032	83 ± 3	6
PBDE 85	0,008	0,024	0,009	0,017	0,050	95 ± 5	1
PBDE 97-118	0,005	0,015	0,014	0,027	0,079	92 ± 6	3
PBDE 100	0,006	0,018	0,008	0,016	0,046	85 ± 2	5
PBDE 101	0,005	0,015	0,010	0,020	0,057	80 ± 3	7
PBDE 119	0,007	0,021	0,011	0,021	0,062	78 ± 4	9
PBDE 116	0,003	0,012	0,008	0,016	0,046	78 ± 3	8
PBDE 138	0,014	0,042	0,007	0,013	0,038	78 ± 2	8
PBDE 139	0,008	0,024	0,009	0,018	0,053	75 ± 5	9
PBDE 153	0,007	0,021	0,005	0,011	0,031	77 ± 3	7
PBDE 154	0,01	0,03	0,004	0,008	0,024	78 ± 5	3
PBDE 155	0,007	0,021	0,002	0,005	0,013	75 ± 5	7
PBDE 156	0,004	0,012	0,007	0,014	0,042	81 ± 3	7
PBDE 173-190	0,026	0,078	0,008	0,016	0,045	78 ± 4	8
PBDE 182	0,022	0,066	0,004	0,008	0,023	77 ± 3	7
PBDE 181	0,026	0,078	0,007	0,015	0,043	77 ± 7	8
PBDE 183	0,017	0,051	0,006	0,011	0,033	95 ± 8	3
PBDE 185	0,011	0,033	0,006	0,012	0,036	98 ± 4	3
PBDE 191	0,015	0,045	0,005	0,011	0,031	82 ± 5	2
PBDE 196	0,007	0,021	0,006	0,013	0,037	85 ± 4	2
PBDE 197-204	0,022	0,066	0,007	0,015	0,042	78 ± 3	5
PBDE 198	0,003	0,009	0,005	0,010	0,028	82 ± 8	3
PBDE 203	0,007	0,021	0,004	0,007	0,021	78 ± 4	7
PBDE 206	0,006	0,018	0,005	0,010	0,030	81 ± 5	6
PBDE 208	0,004	0,012	0,003	0,006	0,017	75 ± 6	4

la più bassa concentrazione che produce un picco che può essere distinto in maniera affidabile dal rumore di fondo (tre volte il rapporto segnale/rumore). I limiti di quantificazione (LOQ) sono stati calcolati come tre volte il valore del LOD. I valori di LOD erano in un intervallo compreso tra 0,001 e 0,026 ng/g, mentre i valori di LOQ tra 0,003 e 0,078 ng/g, a seconda del congenere (Tabella 5).

5.2 Prove di recupero

Per verificare l'efficienza di recupero della tecnica estrattiva PLE (Figura 3) sono state effettuate delle

prove di estrazione in replicato su sedimento a cui sono state addizionate concentrazioni note di PBDE. A circa 2 g di sedimento essiccato, privo dei contaminanti target, è stato aggiunto 1 mL di una miscela di PBDE in esano a concentrazione nota. A partire dalla soluzione madre (4,14 mg/L) dello standard di riferimento (NIST SRM 2257) sono state preparate tre soluzioni intermedie in esano a concentrazioni di 0,52, 1,04 e 2,07 mg/L, utilizzate per le aggiunte al sedimento. Sono state previste tre repliche per ciascuna aggiunta, tale che la concentrazione finale della miscela di PBDE nel sedimento fosse di 0,258 (prova 1), 0,5175 (prova 2) e 1,035 (prova 3) µg/g.



Figura 4. Sistema di estrazione PLE (Speed Extractor E-916 system, Buchi, Italia)

La concentrazione finale dei singoli congeneri è riportata in Tabella 5. Il sedimento è stato quindi lasciato ad asciugare a temperatura ambiente per almeno 24h.

Una prima prova di estrazione è stata effettuata utilizzando come solvente di estrazione una miscela di acetone - esano (1:1 v/v) (Da et al., 2019), tuttavia i recuperi ottenuti sono risultati piuttosto bassi, compresi tra il 40-55%, e non erano riproducibili (CV > 20%). Quindi, si è proceduto utilizzando come solvente di estrazione il solo esano, anche alla luce della migliore affinità tra il solvente e gli analiti da estrarre, mantenendo però le condizioni sopra descritte

(paragrafo 4.1). I risultati ottenuti, riportati in Tabella 5, mostrano come i recuperi ottenuti siano migliori e compresi nell'intervallo 65-95% in base al congenero. La ripetibilità (n=3) della procedura risulta soddisfacente con valori di RSD (deviazione standard relativa) compresa tra 2 e 8% e CV minore del 10%.

6. APPLICAZIONE A CAMPIONI REALI

La presenza di microinquinanti organici persistenti in artico è nota da decenni, ma ciò che desta particolare preoccupazione è l'effetto che il cambiamento climatico sta avendo sulla loro circolazione e diffusione anche in queste aree remote. Infatti, processi influenzati dal riscaldamento globale, quali la fusione dei ghiacciai e il disgelo del permafrost, possono risultare delle fonti secondarie di contaminazione. I sedimenti marini sono i recettori finali di molti contaminanti, che possono persistere a lungo o tornare nuovamente in circolo nel comparto acquatico, con ripercussioni sull'intero ecosistema. Il monitoraggio della contaminazione dei sedimenti marini superficiali e profondi può essere utile per ricostruire trend temporali e spaziali delle classi di contaminanti organici considerate.

Il metodo di estrazione e analisi di PBDE descritto è stato utilizzato per la determinazione di tali composti target in campioni di sedimento marino artico. I campioni sono stati raccolti nei fiordi Kongsfjorden e Krossfjorden (arcipelago delle isole Svalbard, Norvegia) con un carotiere a gravità (Figura 5). Sono state prelevate tre carote: NYA21_01 (79°07,879' Lat, 011°43,814' Long), NYA21_03 (78°56,940' Lat, 012°09,115' Long), NYA21_04 (78°59,763' Lat, 011°39,423' Long), successivamente sub-campionate in diverse sezioni con uno spessore compreso tra 0,5 e 1 cm a partire dalla superficie della carota fino ad una profondità di circa 40 cm. Le diverse sezioni di sedimento sono state liofilizzate e pro-

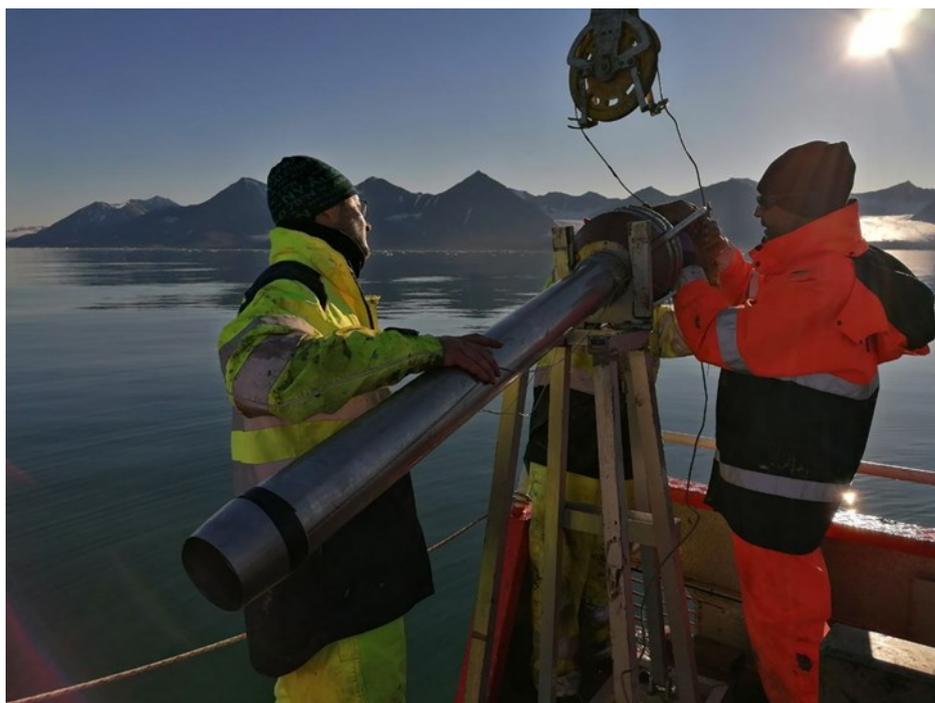


Figura 5. Campionamento con carotiere a gravità leggera (peso 100 kg) a bordo della barca MS Teisten, isole Svalbard, Norvegia

cessate seguendo il metodo sopra descritto. I risultati ottenuti evidenziano come il metodo ottimizzato sia adeguato alla determinazione dei PBDE in queste peculiari matrici ambientali. Nello specifico, la concentrazione dei PBDE, espressa come sommatoria dei 38 congeneri, è risultata essere compresa negli intervalli 17,7-112,09; 0,32-37,34 e 7,44-51,90 ng/g nelle tre carote, rispettivamente. In generale, i PBDE sono stati riscontrati negli strati più superficiali di ciascuna carota (corrispondenti approssimativamente ai primi dieci anni del 2000), mentre non sono stati rilevati negli strati più profondi (corrispondenti approssimativamente alla fine del 1800). Tali andamenti, rispecchiano il periodo di messa in commercio ed utilizzo su scala globale di questi contaminanti, e suggerisce come i PBDE possano essere soggetti ad un trasporto a lungo raggio fino alle zone remote.

7. CONCLUSIONI

Il metodo ottimizzato per la determinazione di 38 congeneri dei PBDE in matrici ambientali solide mediante estrazione liquida pressurizzata (PLE) e analisi in GC-MS, consente la loro determinazione con una buona accuratezza e riproducibilità anche in campioni di sedimento marino artico. Infatti, il metodo minimizza le interferenze della matrice e consente la rilevazione di questi contaminanti anche a concentrazioni estremamente basse.

BIBLIOGRAFIA

CAI, M. G., HONG, Q. Q., WANG, Y., LUO, X. J., CHEN, S. J., CAI, M. H., QIU, C. R., HUANG, S. Y. & MAI, B. X. 2012. Distribution of polybrominated diphenyl ethers and decabromodiphenylethane in surface sediments from the Bering Sea, Chukchi Sea, and Canada Basin. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 81-84, 95-101.

CARLSSON, P., VRANA, B., SOBOTKA, J., BORGÅ, K., BOHLIN NIZZETTO, P. & VARPE, Ø. 2018. New brominated flame retardants and dechlorane plus in the Arctic: Local sources and bioaccumulation potential in marine benthos. *Chemosphere*, 211, 1193-1202.

DA, C., WANG, R., YE, J. & YANG, S. 2019. Sediment records of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in Huaihe River, China: Implications for historical production and household usage of PBDE-containing products. *Environmental Pollution*, 254, 112955.

DE WIT, C. A., HERZKE, D. & VORKAMP, K. 2010. Brominated flame retardants in the Arctic environment – trends and new candidates. *Science of The Total Environment*, 408, 2885-2918.

Direttiva 2000/60/CE del Parlamento europeo e del Consiglio, del 23 ottobre 2000, che istituisce un quadro per l'azione comunitaria in materia di acque

Direttiva 2013/39/EU del Parlamento europeo e del Consiglio, del 12 agosto 2013 che modifica le

Direttive 2000/60/EC e 2008/105/EC per quanto riguarda le sostanze prioritarie nel settore della politica delle acque.

JIAO, L., ZHENG, G. J., MINH, T. B., RICHARDSON, B., CHEN, L., ZHANG, Y., YEUNG, L. W., LAM, J. C. W., YANG, X., LAM, P. K. S. & WONG, M. H. 2009. Persistent toxic substances in remote lake and coastal sediments from Svalbard, Norwegian Arctic: Levels, sources and fluxes. *Environmental Pollution*, 157, 1342-1351.

KIM, Y.-H., KIM, H.-S., CHOI, H.-G., CHO, H.-S. & MOON, H.-B. 2012. Contamination and bioaccumulation of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in Gwangyang Bay, Korea. *Toxicology and Environmental Health Sciences*, 4, 42-49.

MAI, CHENCHEN, LUO, CHENCHEN, YANG, SHENG, PENG, FU & ZENG, E. Y. 2005. Distribution of Polybrominated Diphenyl Ethers in Sediments of the Pearl River Delta and Adjacent South China Sea. *Environmental Science & Technology*, 39, 3521-3527.

SWART, C., GANTOIS, F., PETROV, P., ENTWISLE, J., GOENAGA-INFANTE, H., NOUSIAINEN, M., BÍLSEL, M., BINICI, B., GONZALEZ-GAGO, A., PRÖFROCK, D. & GÖREN, A. C. 2016. Potential reference measurement procedures for PBDE in surface water at levels required by the EU Water Frame Directive. *Talanta*, 152, 251-258.

THOMPSON, M., ELLISON, S. L. R. & WOOD, R. 2002. Harmonized guidelines for single-laboratory validation of methods of analysis (IUPAC Technical Report). 74, 835-855.

U.S. Environmental Protection Agency (EPA). 2017. "Technical Fact Sheet- Polybrominated Diphenyl Ethers (PBDEs)" EPA 505-F-17-015. www.epa.gov/fedfac/technical-fact-sheet-polybrominated-diphenyl-ethers-pbdes-and-polybrominated-biphenyls-pbbs

WANIA, F. & DUGANI, S. 2003. Assessing the Long-Range Transport Potential of Polybrominated Diphenyl Ethers: A Comparison of Four Multimedia Models. *Environmental toxicology and chemistry / SETAC*, 22, 1252-61.



La dissalazione è la soluzione per la siccità?

La soluzione ovvia alla siccità sembra a molti la dissalazione dell'acqua di mare; dopo tutto di acqua di mare ne abbiamo più che a sufficienza. La dissalazione è certamente possibile, ma non è pensabile, perlomeno al momento usarla su larghissima scala. Ci sono dei problemini tecnici non banali. Questo tema è discusso dal prof. Mauro Icardi nel suo intervento: Dissalazione acque marine: qualche considerazione tecnica, disponibile nel blog della Società Chimica Italiana all'indirizzo: <https://ilblogdellasci.wordpress.com/2022/07/11/dissalazione-acque-marine-qualche-considerazione-tecnica/>

La conclusione dell'articolo è che per il momento dovremmo essere più attenti, rispettosi e sobri; anche perché ottenere per dissalazione le centinaia o migliaia di chilometri cubi di acqua che usiamo per scopi irrigui o potabili è al di là delle nostre possibilità attuali.

La chimica dell'Antropocene: energie rinnovabili ed economia circolare per custodire il pianeta e ridurre le diseguaglianze

Il 90% della vita è ospitato nell'immensità dei Mari e degli Oceani. Da loro dipende la nostra sopravvivenza sul Pianeta e adesso hanno bisogno di noi.» Nella Giornata Mondiale degli Oceani, celebrata l'8 giugno di ogni anno, giorno dell'Anniversario della Conferenza Mondiale su Ambiente e Sviluppo di Rio de Janeiro, milioni di persone in tutto il mondo si uniscono per celebrare l'oceano che ci unisce tutti, portando avanti azioni

concrete per la sua salvaguardia.

Il mare produce più del 50% dell'ossigeno che respiriamo, assorbe un terzo dell'anidride carbonica che produciamo, è il grande regolatore del clima. Il ciclo dell'acqua inizia con l'evaporazione in mini particelle che diventano nuvole e pioggia, per poi entrare nella terra e diventare sorgenti, fiumi, laghi, le immense arterie del nostro Pianeta. Una vera e propria magia!

Il mare è un luogo di pace, di



contemplazione, un luogo dove riconnettersi con la natura, dove costruire ricordi indimenticabili. Ma questo luogo è in pericolo. La biodiversità del mare è sotto attacco ovunque: rischiamo di perdere per sempre un equilibrio raggiunto in 4 miliardi di anni che ha consentito alla nostra specie di alimentarsi, respirare, riprodursi, in poche parole di vivere sulla Terra.

Il pericolo reale è che entro il 2050 perderemo un milione di specie, ma non sappiamo quali. Ancora più grave è che non sappiamo quali si siano già estinte. Eppure la nostra sopravvivenza è legata indissolubilmente ai sistemi naturali che sostengono tutta la costruzione della vita. Dal minuscolo plancton alle grandi balene, siamo tutti interconnessi: esseri vegetali, animali, minerali, aria e acqua. Per questo dobbiamo intervenire prima che sia troppo tardi. Soltanto se uniamo le nostre forze possiamo fare la differenza! Lo dicono anche le Nazioni Unite, che hanno dedicato il World Oceans Day del 2022 al tema della Revitalization, "azioni collettive per gli oceani". Soltanto attraverso le azioni di tutti possiamo trovare la giusta energia per andare avanti.

Ricadute economico-sociali della carenza della disponibilità di acqua

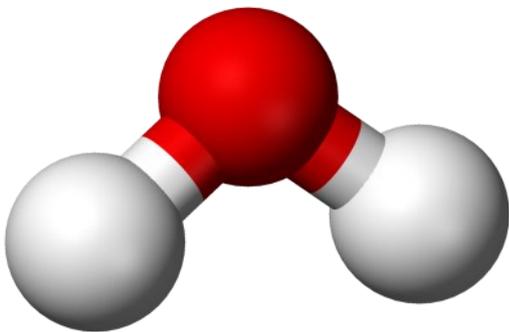
Si è celebrata il 22 marzo la Giornata Mondiale dell'Acqua. Molto si è scritto sulla carenza di acqua e di acqua potabile in molte parti del mondo. Generalmente ci si sofferma sugli aspetti ambientali e sanitari, ma altre sono le ricadute della mancanza o al contrario della disponibilità di acqua. Una di queste riguarda l'istruzione: la carenza di acqua pulita

nelle zone rurali di Kenya, Burkina Faso, Costa d'Avorio comporta il diffondersi di malattie ed infezioni che obbligano i bambini colpiti a saltare le lezioni rimanendo indietro nel percorso di studi, ma con il rischio di finire a mendicare nella strada perché ogni giorno in più lontano dai libri è un giorno in più vicino all'abbandono scolastico. Un'altra ricaduta della carenza

o disponibilità di acqua pulita è il tasso di mortalità infantile: dati statistici dell'ONU e della FAO chiaramente evidenziano una correlazione diretta fra carenze idriche e tasso di mortalità infantile con il risultato di impegnare risorse per contrastarla mentre basterebbe una ricchezza idrica maggiore e di nuocere allo sviluppo demografico. Una terza osservazione riguarda i mezzi di approvvigionamento. Il nodo degli invasi per racco-



gliere acqua piovana è stato affrontato in sedi diverse, non sempre tutte d'accordo su tale strumento che invece, abbinato a pompe azionate da energia solare, può rappresentare un supporto significativo. Se poi la raccolta dell'acqua piovana avviene in cisterne, contenitori che si aprono solo in occasione delle piogge, rimanendo chiusi per il resto del tempo è possibile nei Paesi caldi -e molti di quelli poveri lo sono- riscaldare l'acqua fornendo un servizio prezioso in medicina neonatale. Infine vorrei ricordare la importanza nella formazione dei giovani dell'attività fisica che ovviamente sia per l'acqua emessa con il sudore sia per il sudore stesso che bagna la pelle e richiede di lavarla comporta la necessità di una minima quantità di acqua disponibile per ristorare il corpo. Quindi poca acqua poca attività fisica con ricadute negative sullo sviluppo del corpo.



Anche l'aspetto energetico sembra oggi cambiare coinvolgendo l'acqua nell'era dell'idrogeno. La nuova forma pulita di energia ci obbliga a considerare l'acqua anche da questo punto di vista: risorsa preziosa di idrogeno. Se poi gli aspetti economici di bilancio non saranno soddisfatti, questo nulla toglie ad un'ennesima preziosità dell'acqua, essere un abbondante potenziale contenitore di idrogeno. Tra l'altro l'impiego della luce solare (in presenza di un catalizzatore) come energia estrattiva apre ulteriori spazi da percorrere. C'è infine il problema del monitoraggio: per proteggere e per correggere bisogna conoscere. I metodi analitici degli inquinanti in matrice acquosa sono stati messi a punto e pubblicati in forme diverse, praticamente in tutti i paesi sviluppati del mondo. C'è però bisogno di metodi alternativi capaci di fornire risposte in tempo reale, capaci di controllare sistemi automatici di correzione, capaci di indicare in tempo reale gli eventuali inconvenienti prodottisi in un impianto acquedottistico. La Scienza fa grandi progressi e sensoristica e biosensoristica ci vengono incontro. I test di tossicità integrale rappresentano in tale linea un'ulteriore opportunità in quanto fornendo una risposta integrale ed in tempo reale ci affrancano, in una fase di urgenza, dalle analisi specifiche e puntuali che possono essere eseguite soltanto quando necessario. La ricchezza d'acqua non sempre significa disponibilità: in un terreno agricolo ad esempio si possono creare a seguito di ripetuti interventi sbagliati da parte dell'uomo delle condizioni assai negative a fini della trasferibilità e del trasporto dell'acqua. Anche su questo punto sono stati messi a punto test idonei propri e finalizzati a misurare non la quantità di acqua presente, ma il grado della sua disponibilità e quindi di sfruttamento da parte dell'uomo e della coltura scelta per il terreno .

Il problema degli antibiotici nelle acque

L'estesa applicazione degli antibiotici in medicina e veterinaria ha prodotto come risultato lo smaltimento nelle acque superficiali di tutto il mondo di grandi quantità di farmaci. Questi possono essere trasferiti dalle acque superficiali e dal suolo circostante alla catena alimentare ed all'organismo umano, se non vengono completamente rimossi dai depuratori prima che il trasferimento avvenga. A prova di ciò antibiotici sono stati trovati negli organismi del corpo umano e nei liquidi biologici, ad esempio urina, a prescindere dal loro consumo.



L'esposizione ad antibiotici può provocare effetti ecotossicologici come la genotossicità e la tossicità per la crescita come rilevato nei pesci. L'impatto a lungo termine nell'uomo non è noto. Di certo viene osservato l'aumento della resistenza ad alcuni microrganismi e ad alcuni ceppi con il risultato dell'inefficacia del trattamento antibiotico. È pertanto necessario un trattamento delle acque capace di impedire tutti questi effetti negativi. Il processo degradativo di rimozione più applicato è quello

ossidativo. La scelta della tecnologia deve tenere conto dei composti che coesistono nella produzione con la molecola antibiotica. Questa è la ragione per cui l'ozonizzazione viene a volte preferita, seguita dalla filtrazione su carbone attivo. Anche la clorazione e la fotodegradazione trovano applicazione. Durante tutte queste trasformazioni si possono però produrre molecole più piccole dei principi del farmaco e quindi più mobili, ma talora anche più tossiche degli antibiotici. Questo avviene soprattutto nel caso di trattamenti fotolitici o biodegradativi. Questo deve indurre, direi obbligare, a controlli non solo sulla rimozione degli antibiotici, ma anche sulla tossicità derivata al sistema idrico trattato dal processo depurativo.



PHOENIX: protection, resilience, rehabilitation of damaged environment

COST ACTION CA19123

Le sfide attuali che l'umanità deve affrontare sono molteplici ed importanti quali, ad esempio, il riscaldamento globale, l'eccessivo utilizzo di energia da combustibili fossili nonché la crescente urbanizzazione. Sebbene le attuali strategie siano limitate, i microrganismi costituiscono una concreta possibilità per risolvere queste sfide. Infatti i microrganismi hanno un ruolo fondamentale nel plasmare gli ecosistemi terrestri e, sfruttando le loro capacità, possono contribuire concretamente a ristabilire un equilibrio ambientale.

Il progetto PHOENIX (<https://www.cost-phoenix.eu>) ha come scopo principale di promuovere l'efficacia dei sistemi bio-elettrochimici (BES), sistemi che sfruttano l'attività biologica dei microorganismi per ridurre la contaminazione, riciclare gli elementi, nonché sintetizzando nuovi prodotti, producendo al contempo elettricità, nel caso delle celle a combustibile microbiche (MFC). I progressi nel campo dell'elettronica a bassa potenza consentono di poter sfruttare queste tecnologie. Le attività del progetto, iniziato a settembre 2020, riguardano la caratterizzazione delle BESs e la loro implementazione per il bio-rimedio o come bio-sensori o bio-reattori.

I diversi campi delle scienze naturali delle scienze sociali e dell'ingegneria sono strettamente in connessione per risolvere le difficili sfide poste dalla riconversione e transizione energetica e sono strettamente collegate alla protezione dell'ambiente.

Un aspetto fondamentale ed innovativo del progetto è l'interconnessione tra la pianificazione urbana sostenibile e gli aspetti sociologico-economici della transizione energetica e delle tecnologie coinvolte. L'integrazione delle biotecnologie nel contesto urbano è una priorità fondamentale per una corretta pianificazione urbana e

la riduzione dell'impatto sull'ambiente.

Il progetto è suddiviso in 5 Working Groups:

- WG 1 Educational and socio-economics aspect of environmental science for sustainable city planning; WG Leader: Dr Rawad CHAKER, Université Lyon
- WG 2 Bio-electrochemical systems to reduce the environmental impact of pollutants and bioresource valorisation; WG Leader: Dr Argyro TSIPA, University of Cyprus
- WG 3 Environmental monitoring and sensing; WG Leader: Prof Fabien MIEYEVILLE, University of Lyon
- WG 4 Point-of-load; WG Leader: Prof Domenico BORELLO, Università di Roma 'La Sapienza'
- WG 5 Dissemination. WG Leader: Prof Rachel AMSTRONG, Campus Sint-Lucas Ghent

Tra i diversi scopi del progetto, i principali sono:

- Identificare le possibili applicazioni delle BES come tecnologie di elettro-risanamento, biorisanamento, biosensing e biodegradazione, con anche le sue possibili ricadute sociali;
- modellare la cinetica dei bioprocessi delle BES, nonché ottimizza-



News

re la piattaforma hardware per WSN autonome;

- migliorare le conoscenze e la formazione di studenti e ricercatori, istituzioni pubbliche e associazioni di cittadini nell'ambito delle BES nonché integrare le biotecnologie nel contesto del flusso decisionale politico e nella pianificazione urbana nell'ambito della conservazione dell'ambiente e il riciclo dei rifiuti.

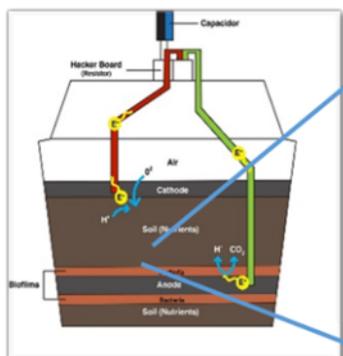
Nei primi due anni sono stati raggiunti diversi obiettivi del progetto PHOENIX e ciascun gruppo ha lavorato, nonostante la pandemia, in concomitanza dell'inizio del progetto, abbia impedito diversi incontri di persona e, nei prossimi due anni, sono pianificate diverse attività.

Il primo incontro di persona è stato anche la prima conferenza di PHOENIX, tenutasi a fine gennaio 2022 (<https://www.cost-phoenix.eu/download/abstract-book-phoenix-meeting-19-22-jan/>) presso la facoltà di Ingegneria da La Sapienza Università di Roma. Per sopperire, almeno parzialmente, ai problemi legati alla pandemia da COVID19 che purtroppo ha conciso con i primi due anni del progetto, sono stati effettuati più di 100 incontri virtuali tra Core group e WGs. Sono state effettuate numerose mobilità virtuali e Short Term Scientific Missions (STSMs), per un totale di 56 grant assegnati, e sono state prodotte diverse pubblicazioni fatte tra diversi gruppi. Nonostante le difficoltà causate dalla pandemia, sono state avviate diverse collaborazioni tra i partner del consorzio PHEONIX, realizzando diversi progressi nel campo dei sistemi bio-elettrochimici (Bio-electrochemical systems, BES) e delle loro possibili applicazioni.

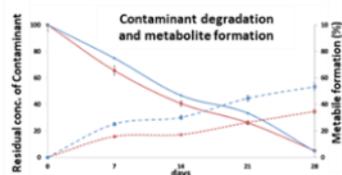
Alcuni tra i principali risultati raggiunti:

- Organizzazione di special sessions all'interno di SDEWES (The International Centre for Sustainable Development of Energy, Water and Environment Systems) sia per il 2022 che per il 2023 (il prossimo convegno è a Settembre di quest'anno a Dubrovnik;

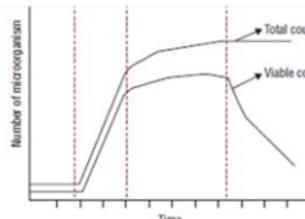
Degradazione dei contaminanti e crescita batterica nelle celle a combustibile microbiche (MFC, microbial fuel cells)



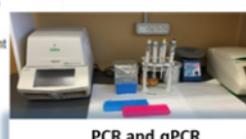
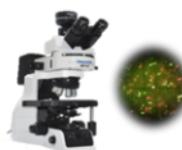
Contaminant degradation



Bacterial growth



Study of microbial community involved in contaminant degradation by metabolism or co-metabolism



PCR and qPCR



Next Generation Sequencing of DNA/RNA

News

- co-organizzazione del convegno MEEP (Microbial/Enzymatic Electrochemistry Platform) sia per il 2022 che per il 2023 (a Lucerna il prossimo Luglio).

Quest'anno si è tenuta una sessione, all'interno del Convegno annuale della SETAC di Dublino (30 aprile–4 maggio 2023) intitolata "Bioelectrochemical Systems Technology for a Better Environment", i cui chair erano del progetto PHOENIX; l'abstract book del convegno ne riporta i dettagli (<https://europe2023.setac.org/wp-content/uploads/2023/04/Abstract-Book-Final2.pdf>)

Inoltre sono stati pubblicati diversi articoli a firma condivisa tra più stati membri del progetto tra cui:

- Tsipa, A., Varnava, C. K., Grenni, P., Ferrara, V., & Pietrelli, A. (2021). Bio-Electrochemical System Depollution Capabilities and Monitoring Applications: Models, Applicability, Advanced Bio-Based Concept for Predicting Pollutant Degradation and Microbial Growth Kinetics via Gene Regulation Modelling. *Processes*, 9(6): 1038.
- Paquete, C. M., Rosenbaum, M. A., Bañeras, L., Rotaru, A. E., & Puig, S. (2022). Let's chat: communication between electroactive microorganisms. *Bioresource Technology*, 347: 126705.
- Vassilev, I., Dessì, P., Puig, S. & Kokko, M. (2022). Cathodic biofilms– A prerequisite for microbial electrosynthesis. *Bioresource Technology*, 348: 126788.
- Pasternak, G., de Rosset, A., Tyszkiewicz, N., Widera, B., Greenman, J., & Ieropoulos, I. (2022). Prevention and removal of membrane and separator biofouling in bioelectrochemical systems-a comprehensive review. *Iscience*, 25 (7): 104510.
- Khalifé, M., Chaker, R., & Gasparovic, S. (2022). Environmental Education and Digital Solutions An analysis of the Lebanese context's existing and possible digital actions. *Front. Educ.* 7: 958569.
- Nicula, N. O., Lungulescu, E. M., Ieropoulos, I. A., Rimbu, G. A., & Csutak, O. (2022). Nutrients Removal from Aquaculture Wastewater by Biofilter/Antibiotic-Resistant Bacteria Systems. *Water*, 14(4): 607.
- Kaplan, G., Aydinli, H. O., Pietrelli, A., Mieveville, F., & Ferrara, V. (2022). Oil-Contaminated Soil Modeling and Remediation Monitoring in Arid Areas Using Remote Sensing. *Remote Sensing*, 14(10): 2500.
- Kaplan, G., Rashid, T., Gasparovic, M., Pietrelli, A., & Ferrara, V. (2022). Monitoring war-generated environmental security using remote sensing: A review. *Land Degradation & Development* 33: 1513–1526
- Aimola, G., Gagliardi, G., Pietrelli, A., Ancona, V., Barra Caracciolo, A., Borello, D., Ferrara, V. & Grenni, P. (2022). Environmental Remediation and Possible Use of Terrestrial Microbial Fuel Cells. *WIT Transactions on The Built Environment*, 207, 121-133.

Per Maggiori informazioni:

Andrea Pietrelli
andrea.pietrelli@univ-lyon1.fr

Yannis Ieropoulos
I.Ieropoulos@soton.ac.uk

Paola Grenni
grenni@irsa.cnr.it



Linea guida per la definizione di valori limite di emissione (VLE) per le sostanze chimiche prioritarie, pericolose prioritarie e per gli inquinanti specifici

a cura di: **Stefano Polesello e Stefano Ghergo, Sara Valsecchi, Elisabetta Preziosi**

Istituto di Ricerca sulle Acque, sedi di Brugherio e Roma-Montelibretti

È stata appena pubblicata la Linea guida per la definizione di valori limite di emissione (VLE) per le sostanze chimiche prioritarie, pericolose prioritarie e per gli inquinanti specifici sul sito di SINTAI, il Sistema Informativo Nazionale per la Tutela delle Acque Italiane all'indirizzo: <https://www.sintai.isprambiente.it/public/UWWTD/strumenti.xhtml?faces-redirect=true>.

Questa Linea Guida è stata preparata dal Gruppo di lavoro tecnico (GdLT) per la definizione degli standard di qualità ambientale per i corpi idrici superficiali e sotterranei, istituito presso il Ministero dell'Ambiente e della Sicurezza Energetica, col coordinamento e la partecipazione di Ricercatori e Tecnologi del nostro Istituto.

Uno degli obiettivi rilevanti della Direttiva Quadro sulle Acque (Water Framework Directive, WFD, Direttiva 2000/60/CE) è la protezione delle acque dal rischio derivante dall'inquinamento chimico, con particolare riferimento all'inquinamento dovuto alle sostanze prioritarie e pericolose. La WFD prevede che il rischio chimico sia gestito secondo un approccio combinato, che prevede da una parte la definizione di Standard di Qualità Ambientale (SQA) per le sostanze prioritarie, allo scopo di definire uno stato chimico nelle acque superficiali, e dall'altra la messa in atto di misure di controllo delle emissioni, quali la definizione valori limite di emissione (VLE), che in genere sono un adeguato strumento per la riduzione delle emissioni.

In assenza di una metodologia comunitaria armonizzata per la definizione di VLE, si è ritenuto necessario preparare una linea guida a livello nazionale, ispirata ai principi e documenti discussi a livello comunitario. Il documento è stato prodotto dal Gruppo di Lavoro, che include esperti del Ministero dell'Ambiente e della Sicurezza Energetica, Istituto Superiore di Sanità, Istituto Superiore per la Ricerca Ambientale (ISPRA) col coordinamento dell'Istituto di Ricerca Sulle Acque (IRSA) del CNR.

Il principio cardine condiviso per la derivazione dei VLE per le sostanze chimiche è il conseguimento degli SQA nel corpo idrico recettore. L'applicazione di VLE deve tuttavia essere una misura calibrata sulla situazione locale, relativamente al corpo e al bacino idrico nel quale recapita lo scarico stesso, in grado di garantire anche la prevenzione del deterioramento dello stato dei corpi idrici superficiali.

ISPRA Istituto Superiore per la Protezione e la Ricerca Ambientale

SINTAI

News 1

Search Cerca

Area riservata

- > Direttiva 91/676
- > EIONET / SOE
- > D. Lgs. 152 / 1999
- > WebGIS

Guide compilazione e modelli 12° Reporting UWWTD anni 2019/2020 - articolo 15

Guide compilazione e modelli 12° Reporting UWWTD anni 2019/2020 - articolo 17

New! PDF Linea guida per la definizione di valori limite di emissione (VLE) per le sostanze chimiche prioritarie, pericolose prioritarie e per gli inquinanti specifici

Biodegradazione di contaminanti organici e possibili applicazioni per il biorimediazione di aree contaminate

Relatore Interno

Prof.ssa Maria Letizia Costantini (Dip. Biologia Ambientale Sapienza Università di Roma)

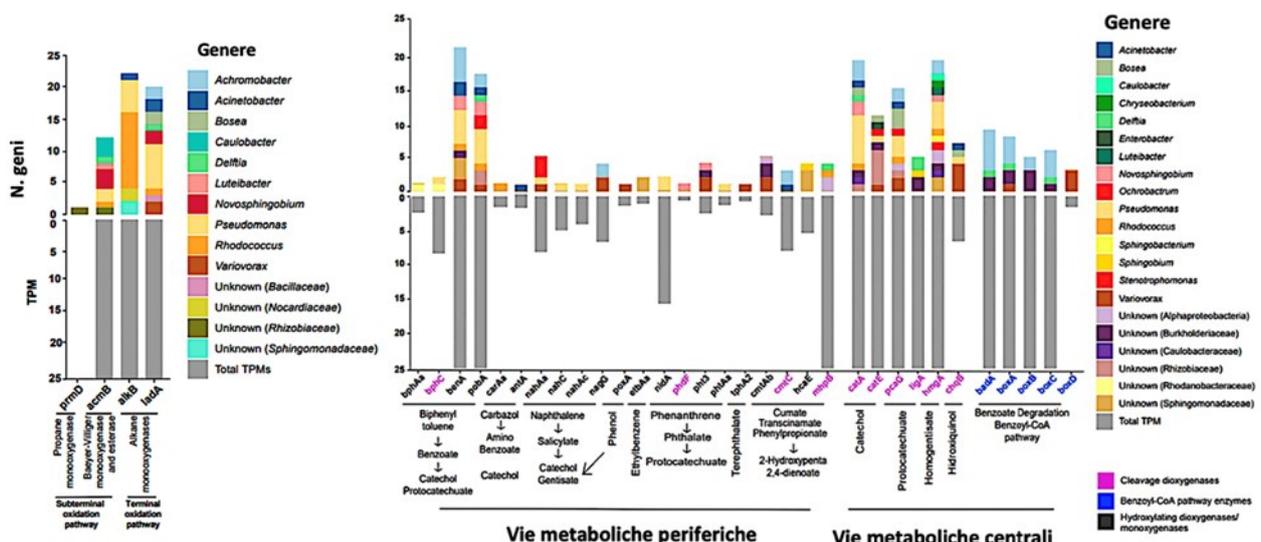
Relatori esterni

Prof. ssa Anna Barra Caracciolo (IRSA-CNR)

Prof. Rafael Rivilla (Università Autonoma di Madrid-UAM)

Emiliana Pandolfo

Figura 1. Consorzio sito 1 (Spagna. Abbondanza dei geni (N. geni) che codificano gli enzimi coinvolti nelle vie metaboliche degradative dei composti alifatici e aromatici per genere batterico identificate nel metagenoma. La quantità di geni viene espressa con il loro numero e con i valori di TPM (Transcript Per Million)



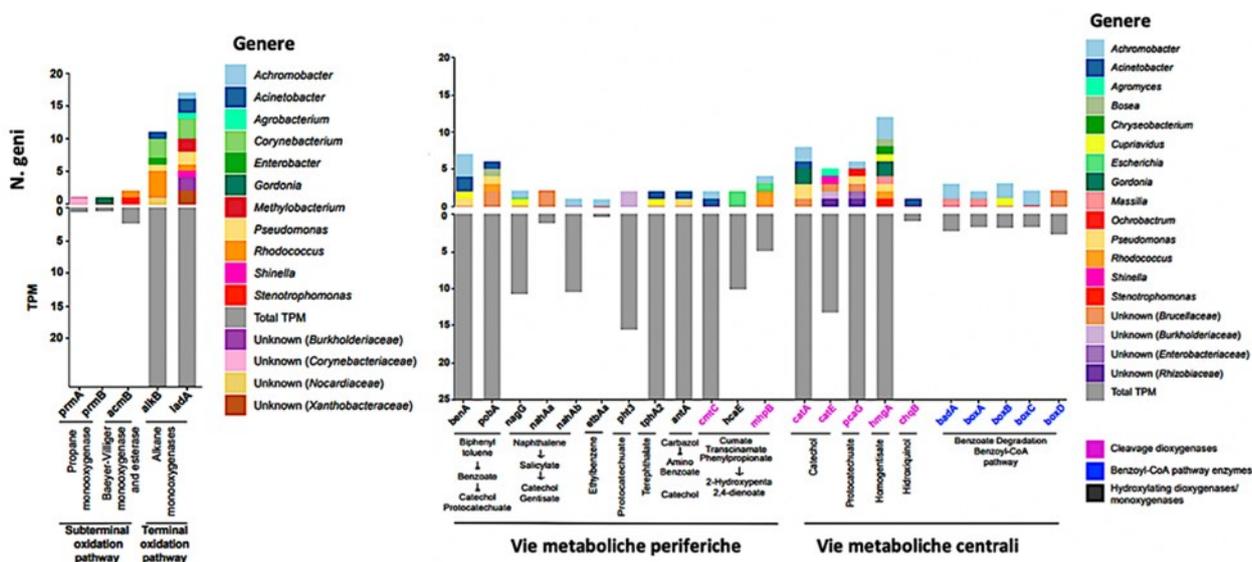
News

La sperimentazione si è svolta presso il laboratorio di Microbiologia dell'Università Autonoma di Madrid e il mio contributo si è inserito nell'ambito di un tirocinio di tesi svolto con finanziamenti del programma Erasmus+. Gli esperimenti sono stati mirati all'isolamento (tramite culture di arricchimento) di due consorzi batterici naturali provenienti da due siti cronicamente contaminati da idrocarburi, uno in Spagna (Sito 1) ed un altro in Cina (Sito 2). I siti di indagine erano stati individuati nell'ambito di un più ampio progetto europeo. Durante il lavoro di tesi, è stato condotto sia il sequenziamento (NGS) del gene che codifica per l'rRNA 16S, che dell'intero genoma del consorzio (metagenoma, Shotgun) e i dati del sequenziamento sono stati utilizzati per ricavare le informazioni sia sulla struttura (composizione tassonomica), che sulla funzione dei consorzi microbici.

In particolare, sono stati individuati i geni coinvolti nelle vie metaboliche degradative degli idrocarburi alifatici e aromatici. I risultati di questo esperimento hanno rivelato che i due consorzi isolati erano prevalentemente composti dai generi *Pseudomonas* (Gamma-Proteobacteria), *Acinetobacter* (Gamma-Proteobacteria), *Enterobacter* (Gamma-Proteobacteria), *Delftia* (Beta-Proteobacteria) e *Achromobacter* (Beta-Proteobacteria).

Nel metagenoma dei due consorzi sono state rinvenute ben 358 copie di geni responsabili della degradazione degli idrocarburi alifatici e aromatici. Più nello specifico, nel consorzio isolato dal sito 1 (Spagna) sono state ritrovate 248 copie di geni coinvolti nel catabolismo degli idrocarburi (55 coinvolti nella degradazione degli idrocarburi alifatici e 193 in quella degli idrocarburi aromatici) (Figura 1), mentre nel consorzio isolato dal sito 2 (Cina) sono state trovate 110 copie di geni coinvolti nel catabolismo degli idrocarburi (32 coinvolti nella degradazione degli idrocarburi alifatici e 78 in quella degli idrocarburi aromatici) (Figura 2). Ulteriori analisi bioinformatiche dei dati ottenuti dalla shotgun hanno permesso di identificare alcune specie quali *Pseudomonas plecoglossicida*, *Acinetobacter pittii* e *Stenotrophomonas acidaminiphila*.

Figura 2. Consorzio Sito 2 (Cina). Abbondanza dei geni (N. geni) che codificano gli enzimi coinvolti nelle vie metaboliche degradative dei composti alifatici e aromatici per genere batterico identificate nel metagenoma. La quantità di geni viene espressa con il loro numero e con il loro numero e con i valori di TPM (Transcript Per Million)



News

Questo esperimento dimostra come la capacità di degradare i composti organici non sono possedute da una singola specie, ma più frequentemente da consorzi batterici in cui si instaurano relazioni sinergiche tra diverse specie, con uno spettro più ampio di geni funzionali e di potenziali vie metaboliche di degradazione.

La presenza, in tutti i consorzi isolati, dei *Gamma-Proteobacteria* e dei *Beta-Proteobacteria* conferma le grandi potenzialità di queste classi nel degradare diversi contaminanti. Infine, questa sperimentazione ha dimostrato come i microrganismi abbiano un ruolo attivo nel destino e nella rimozione dei contaminanti organici, dimostrando le loro principali funzioni di recupero, mantenimento e sostenibilità degli ecosistemi. Nell'ambito della tesi, che ha previsto anche un approfondimento della letteratura relativa alle vie degradative degli idrocarburi alifatici e aromatici, è stata anche prodotta una *review* che è stata pubblicata sulla rivista internazionale *Water*

Pandolfo E, Barra Caracciolo A, Rolando L, 2023. Recent Advances in Bacterial Degradation of Hydrocarbons. *Water* 15: 375 doi: 10.3390/w15020375



Microorganismi associati ad ammendanti organici e loro ruolo nel biorecupero di un suolo degradato a pH alcalino

Relatore Interno

Prof.ssa Maria Letizia Costantini (Dip. Biologia Ambientale Sapienza Università di Roma)

Relatori esterni

Prof. ssa Anna Barra Caracciolo (IRSA-CNR)

Valentina Terenzi

Le attività antropiche come la realizzazione di grandi opere ingegneristiche (es. gallerie autostradali e ferroviarie) possono causare una significativa alterazione degli ecosistemi naturali. La modifica del paesaggio, l'alterazione del suolo e la produzione di grandi quantità di materiali di scarto possono contribuire alla perdita di diversi servizi ecosistemici legati a funzioni di regolazione e di supporto. L'applicazione di "nature based solution", come quella proposta in questo lavoro, risponde alle necessità di trovare soluzioni che riducano al massimo gli impatti a lungo termine che interventi invasivi come quello delle grandi opere possono avere sull'ambiente.

In particolare, il principale scopo del lavoro di tesi è stato quello di valutare l'efficacia dell'associazione di microorganismi ed ammendanti organici (compost, digestato, sansa) in presenza/assenza di pianta (*Medicago sativa*), per il biorecupero di terre e rocce da scavo di una galleria autostradale. Questo substrato, detto smarino (Figura 1), è povero di sostanza organica e ha un pH molto alcalino a causa del trattamento a calce effettuato in cantiere. Tuttavia, una volta reso idoneo alla crescita vegetale, può essere impiegato come sottoprodotto, in un'ottica di economia circolare, per il riempimento di avvallamenti del paesaggio, su cui verranno piantate specie vegetali tipiche del territorio nel processo di ripristino a verde dell'area di cantiere.

Smarino depositato in cantiere



Lo studio è stato effettuato allestendo dei microcosmi sperimentali (Figura 2); le analisi al tempo finale (4 mesi) hanno rilevato che l'introduzione delle comunità microbiche e di sostanza organica avvenuta tramite gli ammendanti organici ha permesso un abbassamento significativo del pH dello smarino. Si suppone che i microorganismi abbiano sviluppato inizialmente strategie adattative per sopravvivere a pH elevati (12.53), e che in un secondo momento siano stati capaci di attuare

meccanismi in grado di abbassare il pH del suolo (fino ad una media di 8.4). A conferma di ciò, l'analisi metagenomica della struttura della comunità microbica basata sul gene per l'rRNA 16S (NGS) e la successiva elaborazione dei dati mediante l'utilizzo del software PICRUSt2 ha permesso di effettuare un'analisi funzionale predittiva rilevando la presenza di diversi geni per le proteine di membrana (es. *nuo*, *mrrp*) e per il metabolismo dell'acido indolacetico (*ami*, *nthA*, *ipdC*), coinvolti nella regolazione del pH. Il digestato e il compost si sono rivelati gli ammendanti organici più efficienti per favorire sia l'abbassamento del pH che la crescita della pianta

News

Immagini dei microcosmi nella camera di crescita al tempo iniziale (a sinistra) e al tempo finale (a destra)



(Figura 3). Contrariamente a quanto atteso, la pianta non ha avuto un ulteriore effetto sull'abbassamento del pH in ogni condizione, dimostrando il ruolo principale che hanno avuto i microorganismi in questa funzione. Presumibilmente, questo è ascrivibile alle condizioni ambientali fortemente limitanti nello smarino, che hanno portato la pianta e i microorganismi a competere per le stesse risorse. In questa situazione, i microorganismi risultano avvantaggiati in quanto riescono ad accedere prima e più velocemente ai nutrienti presenti negli ammendanti, mentre le piante vi hanno accesso solo in un secondo momento, a seguito della degradazione della sostanza organica da parte dei microorganismi stessi.

In conclusione, l'utilizzo di ammendanti organici come sottoprodotti (in particolare digestato e compost) ha permesso l'introduzione di popolazioni batteriche attive, centrali nel favorire l'abbassamento del pH e lo sviluppo delle radici di *Medicago sativa* anche all'interno dello smarino. Questo studio in cui un substrato degradato e non adatto per lo sviluppo vegetale è stato recuperato con l'utilizzo di scarti organici è un esempio di una *Nature Based Solution*, in linea con l'economia circolare, poiché sia il compost che il digestato

erano stati prodotti nelle vicinanze dell'area di cantiere.

PRESENTAZIONE DEI RISULTATI

Garbini GL, Barra Caracciolo A, Rolando A, Visca A, Terenzi V, Finizio A, Mazzurco-Miritana V, Nogues I, Grenni P, 2022. Recovery of spoil material treated with lime applying organic amendments and *M. sativa*. In: 8th European Bioremediation Conference (EBC), Chania, Greece, June 12-17, 2022 e-book of Abstracts: 272-273, ISBN 978-618-5558-01-7.



Da sinistra verso destra sono visibili le condizioni ammendate con digestato, compost e sansa. Si nota la maggiore crescita vegetativa e radiale delle piante cresciute in presenza di digestato e compost

News



hosted by Roma 3 University

Best Young Italian Scientist Award

For info visit: <https://italianbranch.setac.org/events/>

I annuncio

Facendo seguito al 1° Workshop SETAC ITALIAN LANGUAGE BRANCH, svoltosi a Siena il 15 Settembre 2022, (<https://italianbranch.setac.org/wp-content/uploads/2022/09/PROGRAMMA-WORKSHOP-SETAC-ILB-15-SETTEMBRE.pdf>) quest'anno il 2° Workshop si svolgerà a Roma a metà Ottobre. Il Workshop (a partecipazione gratuita, previa iscrizione) sarà ospitato presso la sede dell'Università Roma TRE (Metro B, fermata San Paolo Basilica).

I tre temi portanti del Workshop saranno: *One Health, Safety, Sustainability*.

In tale occasione i giovani dottorandi potranno presentare le loro attività di ricerca e partecipare alla "*Best Young Italian Scientist Award*", finanziata dalla SETAC Europe, che mette in palio l'iscrizione gratuita per la partecipazione alla *SETAC Europe 34th Annual Meeting* a Siviglia (Spagna) per il 2024 (5-9 Maggio).

Tutte le informazioni saranno presto disponibili nella sezione "Eventi" del sito della SETAC Italian Language Branch <https://italianbranch.setac.org>





Consiglio Nazionale delle Ricerche
Notiziario dei Metodi Analitici
& IRSA News

**Pubblicazione quadrimestrale telematica dell'Istituto di Ricerca sulle Acque
del Consiglio Nazionale delle Ricerche**

ISSN 2465-017X

Autorizzazione Tribunale di Tivoli n°5/2015

Direzione e Redazione

Istituto di Ricerca sulle Acque, Area della Ricerca RM1, Montelibretti, S.P. 35d, km 0,700
C.P. 10 - 00015 Monterotondo (RM)
e-mail: redazione.notiziario@irsa.cnr.it

Direttore responsabile

Giuseppe Mascolo

Direttore Scientifico

Stefano Polesello

Comitato di Redazione

L. Campanella, A.M. De Girolamo, P. Grenni, L. Guzzella, S. Polesello, L. Patrolecco,
S. Valsecchi

Segreteria di Redazione

S. Ghergo

<http://www.irsa.cnr.it/Notiziario>
https://www.irsa.cnr.it/wp/?page_id=4702

