



Università degli Studi di Cagliari

**DOTTORATO DI RICERCA
BIOLOGIA E BIOCHIMICA DELL' UOMO E DELL'AMBIENTE
Ciclo XXVI**

**UTILIZZO DI NUOVE TECNICHE DI CAMPIONAMENTO PASSIVO DI
CONTAMINANTI PRIORITARI NELLE ACQUE MARINO-COSTIERE
DELLA SARDEGNA (MEDITERRANEO CENTRO-OCCIDENTALE)**

**Settore scientifico disciplinare di afferenza
ECOLOGIA BIO/07**

Presentata da: Dott. ssa Stella Susanna Campisi

Coordinatore Dottorato Prof. Emanuele Sanna

Tutor Prof. Angelo Cau

Esame finale anno accademico 2012 - 2013

A Giovanni

La dottoranda Stella Susanna Campisi ha svolto la propria attività di studio e ricerca nella Scuola di Dottorato in Biologia e Biochimica dell'Uomo e dell'Ambiente, presso il Dipartimento di Scienze della Vita e dell'Ambiente in collaborazione con il Dipartimento di Sanità Pubblica Medicina Clinica e Molecolare dell'Università degli Studi di Cagliari.

La dottoranda ha sviluppato un piano di ricerca inerente la sperimentazione di nuove tecniche di campionamento passivo di contaminanti prioritari nelle acque marino-costiere della Sardegna.

Inizialmente la candidata ha effettuato una approfondita analisi dello stato dell'arte riguardante l'utilizzo dei campionatori passivi in acque marine. L'attività è quindi proseguita attraverso un monitoraggio delle acque di alcune aree marino-costiere della Sardegna.

Gli studi effettuati tra il 2011 e 2013 sono stati oggetto di partecipazione a congressi e workshop e alla pubblicazione di lavori in riviste nazionali ed internazionali, come riportato di seguito:

▲ B. Marras, M. Schintu, A. Marrucci, S. Campisi, E. Cocco, P. Meloni, A. Contu, 2011. Application of DGT techniques for the evaluation of bioavailable metal fractions in the brackish waters of the Lagoon of Santa Gilla (Sardinia, Italy). *Abstract 4th International Passive Sampling Workshop and Symposium*, 79.

▲ A. Marrucci, M. Schintu, B. Marras, S. Campisi, F. Pettinau, Y. Donno, A. Contu, 2011. Passive sampling for the monitoring organic micropollutants in seawater in a marine protected area in the Mediterranean Sea (Sardinia, Italy). *Abstract 4th International Passive Sampling Workshop and Symposium*, 105.

▲ B. Marras, A. Marrucci, S.S. Campisi, F. Pettinau, A. Contu, M. Schintu, 2011. Trace metals and organic micropollutants in brackish waters as measured with passive sampling techniques. *Aquafes Symposium "Passive samplers and alternative sampling technique"* (Nantes 23-24 novembre 2011- poster).

▲ Schintu M., Marrucci A., Marras B., Campisi S.S., Atzori M., Cocco E., Vacca D., Meloni P., Contu A., 2012. Comunicazione dal titolo "Il monitoraggio degli inquinanti chimici in aree marino-costiere. Nuovi approcci per la tutela ambientale e la gestione delle emergenze". *Atti 45°congresso nazionale SITI*, 299-300.

▲ Marrucci A., Marras B., Campisi S.S., Cocco E., Atzori M., Schintu M., 2013. Passive sampling for the monitoring of PHAS in seawater in marine protected areas in the western Mediterranean (Sardinia, Italy). *Atti 6th International Passive Sampling Workshop and Symposium (Bordeaux 26-29 giugno 2013)*, 68.

▲ Marrucci A., Marras B., Campisi S.S., M., Schintu M., 2013. Using SPMDs to monitor the seawater concentrations of PAHs and PCBs in marine protected areas (Western Mediterranean). *Mar. Pollut. Bulletin* 75, 69-75.

▲ VVAA. Metodologie di Monitoraggio dell'Ambiente Marino – Pubblicazione finale del Progetto MOMAR (2012) - http://www.mo-mar.net/it/images/rapporto_finale_momar.pdf, 237 – 301

Nell'ambito del progetto europeo MOMAR (Monitoraggio dell'Ambiente Marino - PO Italia-Francia “Marittimo” 2007-2013) la dottoranda ha partecipato attivamente alla stesura delle Metodologie di Monitoraggio dell'Ambiente Marino con l'utilizzo di strumenti innovativi, ai sensi della Direttiva 2000/60/CE e 2003/105/CE.

Il tema della ricerca sviluppata dalla dottoranda ricade nell'ambito dell'ecologia applicata (Settore scientifico disciplinare: BIO/07). Titolo della tesi: “Sperimentazione di nuove tecniche di campionamento passivo di contaminanti prioritari nelle acque marino-costiere della Sardegna (Mediterraneo centro-occidentale)”.

Lo scopo della ricerca è stato duplice. Nell'ambito degli obiettivi delle Direttive 2000/60/CE, 2008/56/CE, 2008/105/CE e 2013/39/CE sperimentare nuove tecniche di monitoraggio ambientale con particolare riferimento a funzionamento e applicabilità di campionatori passivi per l'analisi delle acque marino-costiere, rilevare sostanze pericolose prioritarie, di natura organica e inorganica, anche a basse concentrazioni ($\mu\text{g L}^{-1}$, ng L^{-1}) al fine di confermare tali dispositivi utili strumenti per la valutazione degli Standard di Qualità Ambientale e la prevenzione dell'inquinamento ambientale.

La dottoranda Stella Susanna Campisi ha mostrato di possedere buone capacità di ricerca, come risulta dalla qualificata produzione scientifica. Ha inoltre dimostrato buone capacità didattiche e apprezzabili attitudini relazionali.

DIPARTIMENTO DI SCIENZE
DELLA VITA E DELL'AMBIENTE
Il Direttore
Pr f Angelo Cau



[Handwritten signatures]

ABSTRACT

In the coastal and marine environment a growing number of contaminants are considered dangerous for their ability to damage ecosystems and move along the food chains.

The assessment of such pollution, which includes among other polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), polychlorinated biphenyls (PCBs) and heavy metals, is complex and subject to numerous criticisms and suggestions for improvement.

The methodology for assessing the quality of surface water is based on water withdrawals on time to entrust the chemical analysis. Many of priority contaminants listed in the Directive "Marine Strategy" 2008/56/EC are however micropollutants present in very low concentrations, often below the detection limit of the methods currently available. Where the concentration of these pollutants exceeds the limits of the law, as in the sediments, it may not be dangerous because this is not bioavailable forms.

In this study were tested for marine waters passive sampling techniques.

Aqueous concentrations of individual PAHs and PCBs were determined in two coastal sites of marine protected areas (MPAs): Asinara and the La Maddalena Archipelago, Sardinia (Western Mediterranean Sea). The use of semi-permeable membrane devices (SPMDs) enabled the detection of dissolved PAHs and PCBs, even at very low concentrations of (pg L^{-1} , ng L^{-1}) in seawater.

The results reveal differences between the two sampling areas related to the concentration of the individual PAHs, which provide information concerning the pollution sources affecting relatively pristine environments.

The PCBs were Generally Observed at levels below the detection limits of the method utilized.

The concentration of aqueous metal ions cadmium, lead, mercury, nickel, chromium and copper have been investigated in the Santa Gillalagoon (South Sardinia). The use of Diffusive Gradients in Thin Films (DGTs) showed that the concentrations of bioavailable fraction (ngL^{-1}) of all metals monitored were below legal limits. However, the results revealed differences in the concentration of individual metals and provided information concerning the sources of pollution.

The passive samplers were useful tools for the assessment of the EQSs and the prevention of pollution in sea water.

INDICE

Capitolo 1 – Introduzione	1
Capitolo 2 - Il campionamento passivo nelle acque marino-costiere	
2.1 - Introduzione	6
2.2 - Semi Permeable Membrane Device (SPMD)	10
2.3 - Diffusive Gradients in Thin Films (DGT)	19
2.4 - Validazione delle metodiche analitiche	24
2.5 - Obiettivi	25
Capitolo 3 - Caratteristiche delle sostanze organiche e inorganiche monitorate	
3.1 - Sostanze organiche	
3.1.1 - Idrocarburi Policiclici Aromatici (IPA)	26
3.1.2 - Policlorobifenili (PCB)	30
3.2 - Sostanze inorganiche	
3.2.1 - Metalli Cd, Cr, Hg, Ni, Pb e Cu	33
Capitolo 4 - Sperimentazione di SPMD nelle acque marino-costiere della Sardegna Settentrionale	
4.1 - Isola Asinara e Arcipelago La Maddalena	
4.1.1 - Introduzione	39
4.1.2 - Materiali e metodi	41
4.1.3 - Risultati	44
4.1.4 - Discussione	51
4.1.5 - Conclusioni	53
Capitolo 5 - Sperimentazione di DGT nelle acque di transizione della Sardegna Meridionale	
5.1 - Laguna di Santa Gilla	
5.1.1 - Introduzione	54
5.1.2 - Materiali e metodi	56
5.1.3 - Risultati	58
5.1.4 - Discussione	63
4.1.5 - Conclusioni	65
Capitolo 6 - Conclusioni	66
Allegato 1	67
Allegato 2	68
Bibliografia	69

CAPITOLO 1

1. Introduzione

La produzione complessiva di sostanze chimiche nei Paesi dell'Unione Europea dal 1930 ad oggi è aumentata da 1 milione a circa 400 milioni di tonnellate (Commission EC, 2001. COM 88; CEFIC, 2009).

Il grado di pericolosità di alcune di queste sostanze è difficilmente valutabile per mancanza di conoscenze riguardanti la loro concentrazione, la modalità di diffusione e di accumulo nell'ambiente, con conseguenti effetti per l'uomo e l'intero ecosistema naturale.

Pur disponendo di dati insufficienti, si può comunque affermare che la presenza di sostanze chimiche è ampiamente diffusa in tutte le matrici ambientali e al fine di perseguire risultati concreti occorre puntare sulla prevenzione e quindi su controllo, informazione e ricerca tecnica e scientifica (Commission EC, 2001. COM 88).

La pressione esercitata dalle attività economiche sull'ecosistema mediterraneo non cessa di intensificarsi. Infrastrutture e impianti turistici e ricreativi continuano a moltiplicarsi su coste già densamente popolate e fitte di abitazioni; in varie regioni costiere di Italia, Francia e Spagna, il tasso di zone edificate nel primo chilometro di fascia litoranea supera già il 45% (Commission EC, 2009. COM 466).

Secondo una definizione del GESAMP, organismo consultivo delle Nazioni Unite sugli aspetti scientifici della protezione dell'ambiente marino, l'inquinamento marino è definito come *"introduzione diretta o indiretta da parte umana, di sostanze o energia nell'ambiente marino che provochi effetti deleteri quali danno alle risorse viventi, rischio per la salute umana, ostacolo alle attività marittime compresa la pesca, deterioramento della qualità dell'acqua marina e riduzione delle attrattive"*.

L'ambiente marino particolarmente vulnerabile del Mediterraneo è vittima di un'inquietante combinazione di fenomeni: inquinamento proveniente dalla terraferma e dalle navi, scarico di rifiuti, minacce alla biodiversità, pesca eccessiva e degrado costiero.

Nel quadro della convenzione internazionale MARPOL (MARitime POLLution) per la prevenzione dell'inquinamento da navi, il Mediterraneo è stato classificato "zona speciale" in riferimento agli idrocarburi a partire dal 1983 e ai rifiuti a partire dal maggio 2009 (MARPOL 73/78). L'Unione per il Mediterraneo ha incluso la riduzione dell'inquinamento del Mediterraneo fra le sue Priorità (Dichiarazione di Parigi, 2008). Gli Stati membri dell'UE si sono espressi in

merito alla realizzazione di buone condizioni ambientali nelle acque marine entro il 2020 (Marine Strategy Framework Directive 2008/56/EC), tramite lo sviluppo di “strategie marine” integrative che applichino, alle attività umane che hanno un’incidenza sul mare, un approccio fondato sugli ecosistemi. Stesso approccio viene adottato, per la gestione della pesca, nel “Regolamento sul Mediterraneo” (Reg. EC 2006 n. 1967).

Nel sistema normativo italiano la Legge n. 979/1982 contenente disposizioni per la difesa del mare, modificata e aggiornata dal D.Lgs. n. 202/2007. Emanata dopo la ratifica della Convenzione MARPOL 73/78, ha come obiettivo la protezione del mare, impone divieti e obblighi per impedire l’immissione di sostanze nocive provenienti da navi, prevede misure volte a prevenire o fronteggiare gli inquinamenti causati da incidenti, l’attivazione di sistemi di monitoraggio delle acque costiere anche con la istituzione di appositi centri operativi, l’istituzione di riserve marine.

Un sistema di controllo e sorveglianza da terra della navigazione marittima oltre ad un sistema di sorveglianza delle navi che trasportano idrocarburi e sostanze pericolose verrà in seguito definito dalla Legge 220/1992. Seguono una serie di provvedimenti legislativi tra i quali meritano di essere menzionati il D.Lgs. 22/1997, D.Lgs. 196/2005, Legge 51/2001, Legge 13/2006, Legge 19/2010, D.Lgs. 152/2006, DM 131/2008 e DM 56/2009 collegate alla 2000/60/EC, D.Lgs. 219/2010 che abroga il D.Lgs. 367/2003, D.M. 260/2010.

L’EMSA CleanSeaNet (CSN) è un sistema di tipo Near Real Time (NRT) per la rilevazione degli inquinamenti marini da idrocarburi (Oil Spill).

La base legale del CleanSeaNet è la Direttiva Europea 2005/35/EC concernente il divieto di sversare sostanze inquinanti in mare ed il conseguente riconosciuto reato penale, sancito anche dalla Direttiva 2009/123/EC. L’EMSA (European Maritime Safety Agency) è stata incaricata di lavorare con gli Stati Membri allo scopo di fornire assistenza ed implementare tale Direttiva mediante soluzioni tecniche adeguate; in questa ottica è nato il CSN.

L’agenzia EMSA è il più importante organo della rete di sicurezza marittima Europea, in stretto contatto con la Commissione Europea e con molte industrie pubbliche e private.

Il CSN fornisce supporto a tutti gli Stati costieri Europei, Stati EFTA (Islanda e Norvegia) ed afferenti, attivandosi anche per supportare, nei casi di particolare emergenza, l’“International Charter Space and Major Disaster”.

Lo sviluppo di economie marittime sostenibili e di una gestione efficace delle coste richiedono politiche fondate sulle migliori conoscenze scientifiche disponibili.

La raccolta periodica dei dati, la loro elaborazione ed interpretazione sono elementi fondamentali e necessari ai fini della valutazione dello stato ambientale dei nostri mari, delle

possibili rese delle risorse naturali, dell'applicazione alla politica comune della pesca e della normativa ambientale nel Mediterraneo. (Commission EC, 2009. COM 466).

La recente strategia globale dell'UE per la ricerca marina e marittima (Commission EC, 2008. COM 534) è volta a migliorare l'efficacia e l'eccellenza stimolando gli sforzi di ricerca integrati, al fine di consentire l'adozione di misure di salvaguardia.

Tempi e modi di tali misure trovano la loro definizione nella Water Framework Directive 2000/60/EC, per l'azione comunitaria in materia di acque tra le quali anche quelle marino costiere, Direttiva 2006/7/EC, per la gestione della qualità delle acque di balneazione, la Marine Strategy Directive 2008/56/EC, per l'azione comunitaria nel campo per la politica dell'ambiente marino, la Direttiva 2008/105/EC relativa agli standard di qualità ambientali SQA di 33 sostanze prioritarie considerate pericolose per i paesi della Comunità Europea e la Direttiva 2013/39/EC, che modifica le direttive 2000/60/CE e 2008/105/CE per quanto riguarda le sostanze prioritarie nel settore della politica delle acque.

Si comprende quindi la necessità di mettere a punto sistemi di monitoraggio innovativi che permettano di avere risultati certi, condivisibili e facilmente trasmissibili, che siano strumento adeguato per la gestione della fascia costiera e degli spazi marittimi e, in ultima analisi, per la tutela ambientale (VV.AA., 2012. Metodologie di Monitoraggio dell'Ambiente Marino- Pubbl. finale Progetto MOMAR).

Le azioni di monitoraggio rappresentano quindi lo strumento di conoscenza e informazione più efficace per giungere alla valutazione sullo stato dei luoghi o di una specifica risorsa.

E' possibile distinguere almeno due fasi di monitoraggio, la prima finalizzata ad acquisire le conoscenze sullo stato della risorsa, la seconda da ripetersi più volte nel tempo con cadenza definita, mirata alla valutazione delle modificazioni indotte dalle azioni intraprese e dall'adozione di eventuali provvedimenti correttivi. Le due fasi devono essere attuate con metodologie del tutto simili in modo tale da fornire dati confrontabili.

L'azione di monitoraggio in campo ambientale è oggetto di specifica disciplina normativa come dimostra la stessa MSD 2008/56/EC che affida all'allegato V la puntualizzazione dei contenuti e dei criteri di impostazione dei programmi di monitoraggio, e le Direttive 2009/90/CE in materia di specifiche tecniche per l'analisi chimica delle acque conformemente a quanto riportato all'art. 8, par. 3, della Direttiva 2000/60/EC e la 2008/105/EC relativamente agli EQS in materia di acque, della Direttiva 2013/39/CE che modifica le direttive 2000/60/CE e 2008/105/CE per quanto riguarda le sostanze prioritarie nel settore della politica delle acque e limiti ammissibili.

In particolare, per quanto attiene l'azione di monitoraggio disciplinata nella fase preparatoria

delle strategie per l'ambiente marino, al capo II art. 11 della MSD 2008/56/EC, essa è considerata fase necessaria del procedimento di definizione delle misure concrete ritenute necessarie per conseguire o mantenere un buono stato ecologico delle acque marine.

Come specificato nell'art.11, i programmi di monitoraggio devono essere “coordinati per la valutazione continua” dello stato ecologico delle acque marine in funzione dei traguardi ambientali che vengono fissati in previsione del conseguimento di un “buono” stato ecologico.

Devono essere compatibili all'interno delle regioni e sotto regioni marine per assicurare comparabilità e una integrazione dei dati tra gli Stati interessati.

I metodi di rilevamento e le procedure analitiche da utilizzare per la determinazione delle sostanze inquinanti devono quindi fare riferimento alle più avanzate tecniche di impiego generale, devono essere tratti da raccolte di metodi standardizzati pubblicati a livello nazionale/internazionale e, qualora non disponibili, devono essere adeguate alla rilevazione degli standard di qualità ambientale al fine di consentire i controlli analitici per la riclassificazione dei corpi idrici.

Questo studio è stato condotto nel Laboratorio di Igiene Ambientale del Dipartimento di Sanità Pubblica, Medicina Clinica e Molecolare, nell'ambito del progetto transfrontaliero MO.MAR (Monitoraggio MARino) PO Italia-Francia Marittimo, coordinato per l'Università di Cagliari dal Prof. Marco Schintu, il cui gruppo di lavoro è da anni impegnato nella sperimentazione di metodiche innovative di monitoraggio e determinazione dei contaminanti chimici negli ecosistemi marino-costieri.

L'obiettivo specifico del progetto, che ha coinvolto Toscana, Sardegna e Corsica, era “la realizzazione di un sistema di controllo marittimo integrato per l'Alto Tirreno”, che ha interessato le istituzioni regionali (Regione Toscana, Regione Sardegna) e centri di ricerca (Consorzio per il Centro di Biologia Marina ed Ecologia Applicata “Guido Bacci” - CBM, Università degli Studi di Cagliari – Dipartimento di Sanità Pubblica, Institut Français de Recherche pour l'Exploitation de la Mer IFREMER, Laboratorio di Meteorologia Modellistica Ambientale - La.M.Ma.) dell'area di competenza con lo scopo di realizzare un percorso comune inerente il monitoraggio ambientale.

In particolare progettare un sistema di monitoraggio marino integrato dello spazio transfrontaliero al fine di trovare applicazione nel riconoscimento delle emergenze ambientali e nella caratterizzazione dei fattori locali e globali di pressione ambientale (MO.MAR PO Italia-Francia Marittimo, 2009).

Le attività svolte hanno spaziato da campagne di misura in situ, campagne di misura in mare

aperto, utilizzo di boe oceanografiche, sperimentazione e validazione di modelli matematici.

Ciascun metodo di monitoraggio adottato ha fornito dati di tipo diverso che, associati tra loro e analizzati mediante l'ausilio di appositi sistemi informatici, hanno evidenziato lo stato di salute delle aree marine oggetto di indagine.

In particolare il monitoraggio integrato delle acque marino-costiere, effettuato con campionatori passivi, saggi biologici ed ecotossicologici ha condotto alla redazione del rapporto finale dal titolo "Metodologie di monitoraggio dell'Ambiente Marino" (VV. AA., 2012).

CAPITOLO 2

Il campionamento passivo delle acque marino-costiere

2.1 Introduzione

Il campionamento passivo, sperimentato sin dagli anni '70, rappresenta una tecnica avanzata e innovativa basata sulla TWA (Time Weighed Average) la media ponderata nel tempo o concentrazione all'equilibrio, di inquinanti presenti in varie matrici ambientali quali aria, suolo, sedimenti e acqua.

L'utilizzo dei campionatori passivi nella valutazione della qualità dell'aria a breve e lungo termine, in ambito locale e su scala globale come avvenuto nell'ambito della Convenzione di Stoccolma delle Nazioni Unite sul movimento transfrontaliero di Persistent Organic Pollutants (POPs), gode di una lunga sperimentazione (Mills *et al.* 2011).

In confronto, l'utilizzo di campionatori passivi per il monitoraggio dell'ambiente acquatico ha avuto un avvio più lento. Tuttavia attualmente si è affermata una linea di ricerca mirata allo sviluppo di dispositivi atti alla misurazione di un ampio range di inquinanti che possono essere presenti nelle acque superficiali, ivi compresi i composti organici emergenti (Alvarez, 2010; Mills *et al.* 2011).

Vi è anche un interesse crescente volto ad estendere l'uso dei campionatori passivi al rilevamento della frazione disciolta di vari inquinanti nell'acqua interstiziale di sedimenti e dei terreni (Mills *et al.*, 2011).

L'acqua è una matrice estremamente eterogenea sia dal punto di vista spaziale che temporale (Keith, 1991). Il mescolamento e la distribuzione delle sostanze chimiche disciolte sono influenzate dall'idrodinamismo delle acque, dal coefficiente di ripartizione delle sostanze chimiche e dalla quantità di sostanza organica presente (Alvarez, 2010).

Nei laghi e negli oceani cambiamenti di temperatura, del moto ondoso e della composizione delle acque possono causare drammatiche modificazioni delle concentrazioni delle sostanze chimiche in relazione alla profondità (Keith, 1991).

Complicazioni ulteriori sono rappresentate da eventi episodici come deflusso superficiale, immissione di sostanze inquinanti e altre sorgenti di contaminazione, che possono provocare eventi isolati o di breve durata inerenti la presenza di contaminanti nelle acque (Alvarez,

2010).

Attualmente i campionatori passivi svolgono un ruolo prezioso nel monitoraggio della qualità delle acque nell'ambito delle Water Framework Directive WFD 2000/60/EC, della Marine Strategy Framework Directive MSFD 2008/56/EC e della Direttiva 2008/105/EC relativa agli Standard di Qualità Ambientali (Environmental Quality Standards, EQS), delle acque superficiali.

In particolare come definito da Allan *et al.* (2006) i possibili impieghi dei campionatori passivi nel contesto della WFD e della MSFD sono:

1. misura della media ponderata nel tempo (TWA Time Weighed Average) o concentrazione all'equilibrio;
2. valutazione delle tendenze spaziali e temporali dei livello di inquinanti;
3. screening dell'inquinante in termini di presenza o assenza (con miglioramento limiti di rilevabilità e quantificazione);
4. speciazione dei contaminanti;
5. individuazione delle fonti di inquinamento;
6. individuazione dei rapporti pressione-impatto;
7. valutazione integrata del carico inquinante.

I dati forniti da questi dispositivi possono essere utilizzati insieme a quelli ottenuti con strumenti convenzionali al fine di influire sui futuri programmi di monitoraggio, migliorare la valutazione del rischio e il livello di confidenza nel monitoraggio dei dati (Allan *et al.*, 2006).

Tuttavia, al fine di permettere una ampia utilizzazione del campionamento passivo nell'ambito di programmi di monitoraggio è necessario approfondire alcuni aspetti quali la durata di esposizione ottimale, la influenza di stagioni e biofouling e le caratteristiche fisico-chimiche dei sistemi acquatici in cui si accumulano gli inquinanti e la conseguente concentrazione TWA (Lohmann *et al.*, 2010)

Tali tecniche di monitoraggio possono essere utilizzate anche nell'ambito della normativa comunitaria per l'industria chimica o metodo REACH (Registration, Evaluation, Authorisation of Chemicals) inerente la registrazione, la valutazione, l'autorizzazione e la restrizione delle sostanze chimiche e volto a tutelare la nostra salute e l'ambiente (Reg. EC, 2009 n.1907; Mills *et al.*, 2011).

Il campionamento passivo è attualmente utilizzato in Gran Bretagna per lo screening e per il controllo investigativo da parte delle Agenzie ambientali di quel paese (<http://www.EnvironmentAgency.gov.uk>).

La metodologia per la valutazione della qualità chimica dei corpi idrici si basa su prelievi puntuali da affidare all'analisi chimica e si fonda sugli standard di qualità ambientale (Environmental Quality Standards, EQS), sulla concentrazione media calcolata per il periodo di un anno (AA-EQS) e sulla concentrazione massima ammissibile della sostanza (MAC-EQS).

Molti dei contaminanti prioritari elencati nella EU-WFD sono microinquinanti organici presenti in concentrazioni che vanno da microgrammi/litro ($\mu\text{g/L}$) a nanogrammi/litro (ng/L) e talvolta a picogrammi/L (pg/L) (Petty *et al.*, 2000).

Gli EQS di queste sostanze sono molto bassi e la loro concentrazione ambientale è generalmente al di sotto o vicina ai limiti di rilevabilità e quantificazione, poiché mancano metodi analitici adeguati e validati.

Senza il prelievo di un congruo numero di campioni, con conseguente aumento del numero delle analisi e dei costi, è difficile ottenere una misura rappresentativa della qualità delle acque nell'ambiente.

D'altra parte il campionamento istantaneo attualmente previsto dalle normative comporta la determinazione dei componenti presenti nella matrice acquosa al solo momento del campionamento piuttosto che la loro concentrazione media e ignora eventi inquinanti circoscritti nel tempo.

L'incertezza associata alla misura della concentrazione nel campione puntuale è bassa, ma è considerevole quella associata alla concentrazione media degli inquinanti nell'acqua dell'ambiente in esame.

Il risultato dell'analisi è condizionato dai diversi fattori. Metodi differenti di campionamento, trasporto, stoccaggio, preparazione dei campioni e analisi possono fornire una stima differente della concentrazione di una sostanza anche nello stesso campione. Inoltre gli approcci sviluppati per il campionamento diretto non possono essere facilmente normalizzati per tenere conto della variabilità ambientale dovuta al clima e alle condizioni meteorologiche.

Esiste dunque la necessità di standardizzare l'intera procedura, dal prelievo all'analisi e allo stesso tempo tenere conto del fatto che gli EQS vengono stabiliti sulla base di metodi di campionamento con le criticità descritte (Miège *et al.*, 2012).

Date tali premesse sono attualmente in fase di sviluppo, in ambito internazionale, nuovi metodi per la misura di contaminanti organici e inorganici negli ambienti acquatici basati sul campionamento passivo, alcuni dei quali sono stati adottati in questo studio.

Rispetto ai metodi tradizionali, i campionatori passivi

a) misurano la frazione libera disciolta di un inquinante e quindi quella biologicamente

disponibile, permettendo anche una valutazione di tipo tossicologico

b) forniscono una misura più rappresentativa delle concentrazioni medie dell'inquinante nel tempo

c) possono essere utilizzati per misurare le concentrazioni di inquinanti organici polari e non-polari e di composti inorganici, inclusi metalli, anioni e radionuclidi.

I metodi di analisi sono gli stessi che si utilizzano per i campioni raccolti puntualmente.

I risultati possono inoltre essere correlati a quelli del biomonitoraggio (Petty *et al.*, 2000; Huckins *et al.*, 2004, 2006).

Secondo Miège *et al.* (2012) gli ostacoli all'adozione del campionamento passivo dipendono

a) dal fatto che gli EQS si basano su campioni puntuali interi o filtrati

b) dalla difficoltà di validare tutti i sistemi di campionamento

c) dalla mancanza di procedure di assicurazione e controllo di qualità.

Recenti progressi sono stati ottenuti con l'introduzione dello Standard ISO (ISO 5667-23:2011 Water Quality-Sampling Part 23: Guidance on passive sampling in surface waters), che fornisce consigli inerenti l'utilizzazione dei dispositivi, e con i saggi interlaboratorio quali AQUAREF e NORMAN.

Viene auspicato un cambiamento legislativo per definire gli AA-EQS in termini di concentrazione nella fase disciolta, la stessa che può essere misurata dai campionatori passivi. (Mills *et al.*, 2007; Greenwood *et al.*, 2007; Miège *et al.*, 2012).

I campionatori passivi possono essere di grande utilità sia in una campagna di screening per la sorveglianza che per mostrare i trend quando le concentrazioni sono basse e consentire l'adozione di misure preventive.

I vantaggi potenziali dell'utilizzo dei campionatori passivi possono essere così riassunti:

✦ Misura diretta del valore medio della concentrazione degli analiti

✦ Misura dei soli analiti non legati al particolato o alla materia organica disciolta

✦ Per le sostanze organiche, maggiore semplicità di estrazione e purificazione degli analiti in maniera standardizzata ed uguale per ciascun campionamento.

✦ Preconcentrazione del campione nella matrice captante con forte abbassamento del limite di quantificazione della metodica analitica rispetto alle tecniche tradizionali.

✦ Possibilità di standardizzare i tempi ed i metodi di campionamento abbassando così l'incertezza della metodica.

✦ Correlazione dei valori riscontrati con la biodisponibilità ambientale degli analiti.

✦ Possibilità di effettuare saggi ecotossicologici sull'eluito.

2.2 Semi Permeable Membrane Device (SPMD)

Esistono diversi strumenti atti ad effettuare un campionamento passivo di componenti organici in ambiente acquoso ciascuno con proprie specificità e livello di sperimentazione.

In questo studio per le indagini sul campo la scelta è ricaduta sui campionatori SPMD o Semi Permeable Membrane Devices (Huckins *et al.*, 1990), forniti da ExposMeter (Sweden).

Nell'ambiente marino, lungo la colonna d'acqua, possono esistere contaminanti organici a concentrazioni estremamente basse. Molti di questi, compresi gli idrocarburi policiclici aromatici (IPA) e bifenili policlorurati (PCB), sono stati designati come inquinanti prioritari da dalla US Environmental Protection Agency e ai sensi della WFD. Il campionamento passivo sembra costituire una valida alternativa ai metodi tradizionali, pensati per il campionamento di discrete quantità di acqua, perché utilizzano un elevato volume di matrice acquosa e garantiscono risultati significativi pur mantenendo limiti di rilevabilità bassi (Vrana *et al.*, 2005). I dispositivi di membrana semipermeabile o SPMD (Huckins *et al.*, 1990) sono stati ampiamente utilizzati per lo screening e la identificazione della sorgente di una varietà di contaminanti organici non polari.

L'SPMD è costituito da uno strato sottile (1 mL) di trioleina pura al 99% contenuta all'interno di una membrana tubolare di polietilene a bassa densità (LDPE) e saldata alle due estremità (Huckins *et al.*, 1990, 2006). Tale membrana, con uno spessore massimo inferiore ai 100 μm , pur non essendo porosa presenta delle cavità transienti di 10 Å di diametro. La maggior parte dei contaminanti idrofobici ambientali presenta un diametro molecolare di poco inferiore (Fig. 1)

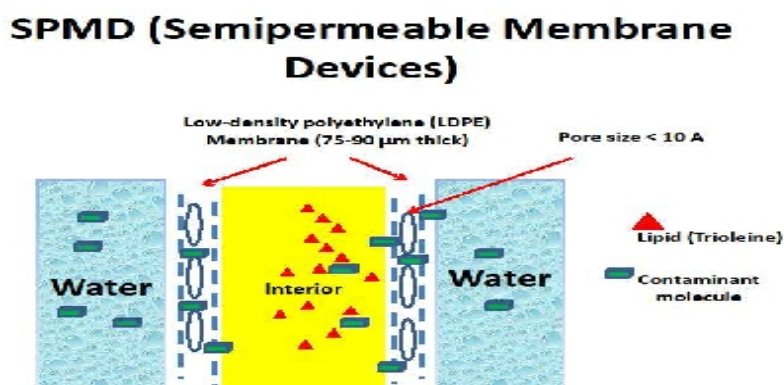


Fig. 1 - Schema di funzionamento di SPMD.

La diffusione dei composti chimici attraverso la membrana di polietilene imita la diffusione passiva di contaminanti organici biodisponibili attraverso biomembrane (Axelmann *et al.*, 1999).

In ambiente acquatico, gli SPMD consentono di rilevare la presenza, la biodisponibilità e il potenziale di bioconcentrazione di contaminanti organici.

Inoltre, il processo di concentrazione passiva mediata dall'assorbimento dei contaminanti organici in trioleina degli SPMD simula la bioconcentrazione di contaminanti organici distribuiti nei tessuti grassi degli organismi (Petty *et al.*, 2000a).

La membrana tubolare di polietilene a bassa densità (LDPE) viene montata su supporti metallici (spiders) al fine di permettere la massimizzazione della superficie esposta, i supporti vengono poi assemblati su tre piani sovrapposti in appositi cesti di acciaio inox (canister) dotati di coperchio (Figg. 2, 3).



Fig. 2 - Membrana tubolare in LDPE montata su spider.



Fig. 3 – SPMD assemblato in un canister.

Il trasporto del materiale è stato effettuato utilizzando recipienti metallici riempiti di gas inerte.

Al momento della deposizione i cesti sono stati ancorati al fondo e sospesi nel corpo idrico tramite un galleggiante a circa 2 m dalla superficie. Durante le operazioni di assemblaggio, trasporto, deposizione e recupero uno o più SPMD non utilizzati per campionare sono stati esposti all'ambiente ed analizzati per verificare eventuali contaminazioni accidentali.

Gli SPMDs sono esposti alla matrice acquosa per un periodo di tempo durante il quale la velocità di assorbimento dell'analita rimane lineare, mediamente quattro settimane, periodo durante il quale vengono campionate quantità di acqua variabili da 15 ai 300 litri in dipendenza delle polarità dell'analita.

Il tempo è espresso in emivita $t = 1/2$, che in questo caso è il tempo necessario perché la metà della concentrazione di una sostanza chimica raggiunga l'equilibrio (Fig. 4)

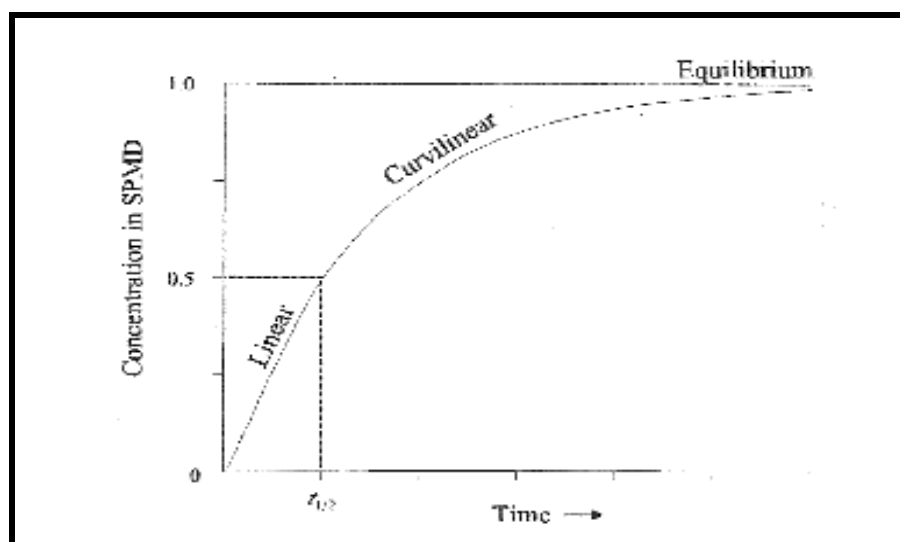


Fig. 4 - Fasi di captazione degli SPMD. Questa figura è riprodotta per gentile concessione della American Petroleum Institute (Huckins *et al.*, 2002).

La frequenza di campionamento di *diverse* sostanze chimiche dipende dalle loro proprietà fisico-chimiche la più importante delle quali è attualmente il coefficiente di ripartizione ottanolo-acqua (K_{ow}), in particolare gli SPMD permettono il campionamento di molecole idrofobiche con coefficiente di ripartizione ottanolo-acqua ($\log K_{ow}$) compreso tra 3 e 8.

Grazie a questo ampio range di idrofobicità gli SPMD permettono di monitorare il 75% degli inquinanti organici inclusi nella lista degli inquinanti prioritari della WFD.

Fattori ambientali quali temperatura, turbolenza, portata e biofouling, possono influenzare la velocità di assorbimento dei contaminanti (Petty *et al.*, 2000b).

Al fine di controllarne l'entità nella trioleina vengono aggiunti, in quantità nota, standard marcati o PRC (Performance Reference Compounds). L'analisi degli standard prima e dopo l'esposizione del campionatore permette di calcolare il fattore di correzione da applicare alla velocità teorica di accumulo degli analiti.

Gli SPMD consentono di evitare gli svantaggi derivanti dall'uso di organismi viventi utilizzati per stimare i livelli di contaminanti di acqua di mare e generalmente forniscono stime più attendibili rispetto a quelle derivanti da esposizione di mitili (Booij *et al.*, 2006a).

Tuttavia, SPMD e organismi non producono un identico profilo di assorbimento del contaminante (Richardson *et al.*, 2003).

Più recentemente gli SPMD abbinati ai POCIS (Polar Organic Compounds Integrative Samplers) sono stati utilizzati per monitoraggio diretto dei microinquinanti presenti nelle acque costiere svedesi (Sundberg *et al.*, 2005) e soprattutto australiane (Shaw *et al.*, 2005).

Dal punto di vista analitico sono stati determinati pesticidi organoclorurati (Bergqvist *et al.*, 1998), PCB (Sundberg *et al.*, 2005), IPA (Utvik *et al.*, 1999; Komarova *et al.*, 2009), PBDE (Booij *et al.*, 2002), Idrocarburi alifatici (Richardson *et al.*, 2003), policlorodibenzodiossine e policlorodibenzofurani (Roach *et al.*, 2009), prodotti alogenati naturali (Vetter *et al.*, 2009).

La determinazione della concentrazione degli analiti negli SPMD viene effettuata attraverso le fasi accuratamente messe a punto in laboratorio e di seguito riportate:

- 1) Estrazione mediante dialisi in solvente
- 2) Purificazione per permeazione su gel (GPC)
- 3) Purificazione in fase solida
- 4) Determinazione analitica

Per la purificazione è stata utilizzata una strumentazione HPLC 1100 Agilent dotata di colonna Phenogel 10 micron 100 A 250 mm x 21,5 mm i.d. (Phenomenex) munita di precolonna e con rivelatore UV impostato a 254 nm.

Le analisi sono state effettuate utilizzando il sistema Varian GC-MS/MS comprendente un gascromatografo Varian CP-3900 con iniettore CP-1077 ed autoiniettore CP-8410 interfacciato ad uno spettrometro di massa a trappola ionica (Varian Saturn 2100).

La separazione è stata ottenuta con una colonna VF-5ms (30m x 0,25 mm d. i., 0,25 µm spessore film) fornita dalla Varian. Come gas di trasporto si è utilizzato elio 99,9995% al flusso costante di 1 ml/min con una pressione pulsata di 40 psi della durata di 0,20 min.

Per ciascun campione sono stati iniettati 0,5 µl con liner da 2 mm di diametro.

- 1) estrazione mediante dialisi SPMD

I contaminanti concentrati negli SPMD sono stati separati dalla fase lipidica mediante

dialisi. Ciascun SPMD è stato prelevato dal recipiente di trasporto ed è stato immerso in 100 ml di esano per 30", successivamente pulito con una spazzola di nylon e risciacquato con acqua bidistillata ed infine immerso in HCl 1 N per 30" e sciacquato con acqua bidistillata e acetone.

Ogni campione, dopo essere stato lasciato asciugare, è stato dializzato due volte con 180 ml di esano, il primo per 24h a 18°C ed il secondo per 8h. All'inizio dell'estrazione sono stati aggiunti 100 ng di acenaftilene-d8, pirene d10, perilene- d12, decaclorobifenile e tetrachloro- m- xilene come standard interni. Gli estratti sono stati poi ridotti a piccoli volumi (15 mL) con l'utilizzo di un evaporatore rotante.

Il solvente è stato scambiato con cloruro di metilene e ridotto ad 1 ml sotto corrente di azoto a 40°C. Gli estratti sono stati posti in vials e conservati a -20°C fino al momento della ulteriore purificazione.

2) purificazione per permeazione su gel in GPC degli estratti esanici degli SPMD provenienti dalla dialisi

Gli estratti esanici degli SPMD sono stati purificati in GPC (Petty *et al.*, 2004), la purificazione è stata eseguita utilizzando GPC con un sistema HPLC Agilent 1100.

La soluzione di calibrazione dei tempi di ritenzione è stata preparata sciogliendo in 10 mL di cloruro di metilene i seguenti composti: 100 mg di dietilesilftalato, 10 mg di bifenile, 10 mg di naftalene, 2 mg di coronene, 10 mg di zolfo. L'eluizione è stata effettuata utilizzando una miscela di cloruro di metilene/metanolo al 2% al flusso di 4 ml/min. Successivamente sono stati iniettati i dializzati ridotti ad un volume di 1 ml e scambiati con cloruro di metilene.

La raccolta della frazione purificata è iniziata al tempo corrispondente al 50% della distanza tra l'apice del picco del dietilesilftalato e l'apice del picco del bifenile (picco 2), ed è terminata al tempo corrispondente al 70% della distanza tra l'apice del coronene (picco 4) e l'apice dello zolfo (picco 5).

Gli estratti sono stati ridotti a 1 mL di volume. Il Fluorantene-d10 (100 ng in 100 µl di nonano) è stato aggiunto come standard di recupero e il volume è stato ulteriormente ridotto a 50-100 µl.

3) preparazione del KS per l'eliminazione dell'acido oleico dagli estratti da SPMD

Gli estratti degli SPMD devono essere purificati su Silice con Silicato di potassio (Lebo *et al.*, 1989) per eliminare l'acido oleico residuo. A tal fine sono stati pesati 18 gr di silice 70/230 °C prelavata con CH₂Cl₂ e attivata a 130°C per 12h. Dieci grammi di KOH sono stati solubilizzati in 45 ml di CH₃OH per pesticidi. In un pallone da 100 ml si è aggiunta la silice a piccole porzioni e si è lasciato reagire sotto agitazione a 55°C per 90 minuti.

Il metanolo è stato allontanato sotto leggero vuoto portando la temperatura del bagno gradualmente a 90°C.

La fase è stata attivata in stufa a 130° per una notte. Gli estratti sono stati eluiti con miscela esano/cloruro di metilene al 10%.

4) preparazione del gel di silice impregnato di acido fosforico

50 gr di gel di silice sono stati trattati con 33 gr di acido ortofosforico al 85% prelavato con CH₂Cl₂ (Petty *et al.*, 2004). La miscela è stata mescolata fino a quando non è diventata fluida.

5) purificazione dei dializzati SPMD per IPA dopo GPC

E' stata preparata una colonna cromatografica da 10 mm introducendo nell'ordine un fiocco di lana di vetro prelavato con cloruro di metilene, un cm³ di solfato di sodio prelavato con cloruro di metilene, 3 gr di gel di silice attivata, 3 gr di silicato di potassio, 3 gr di silice impregnata con acido ortofosforico, 2 cm³ di sodio solfato anidro.

La colonna è stata condizionata con miscela esano/t-butilmetiletere al 4%.

Dopo deposizione il campione è stato eluito con 50 ml di miscela esano/t-butilmetiletere al 4%. Ciascun campione dopo aggiunta di 100 µl contenenti gli standard di recupero è stato concentrato a 50 µl sotto leggero flusso di azoto ed analizzato in GC/MS (Petty *et al.* . 2000).

6) purificazione dei dializzati SPMD per PCB dopo GPC

E' stata preparata (Petty *et al.*, 2000) una colonna cromatografica da 10 mm introducendo nell'ordine un fiocco di lana di vetro prelavato con cloruro di metilene, 1 cm³ di solfato di sodio prelavato con cloruro di metilene, 5 gr di Florisil 60–100 mesh trattato a 475°C per 8 h e attivato a 130°C per una notte prima dell'uso (Booij *et al.*, 2002).

La colonna è stata condizionata con miscela esano/metil-t-butiletere 1/3 ed i campioni eluiti con 60 ml della miscela.

Dopo concentrazione gli estratti sono stati ulteriormente purificati su una colonna da 10 mm preparata introducendo nell'ordine un fiocco di lana di vetro prelavato con cloruro di metilene, 1 cm³ di solfato di sodio prelavato con cloruro di metilene, 5 gr di silice attivata.

Dopo condizionamento con esano e deposizione del campione esso è stato eluito con 46 mL di esano e 55 ml di una miscela al 40% di metil-t-butiletere in esano.

Ciascun campione dopo aggiunta di 100 µl contenenti gli standard di recupero è stato concentrato a 50 µl sotto leggero flusso di azoto ed analizzato in GC/MS.

Determinazione strumentale degli idrocarburi policiclici aromatici (IPA)

Per quanto attiene la determinazione degli IPA gli estratti purificati sono stati analizzati

con GC/MS, lo spettrometro di massa utilizzato era Varian Saturn 2100 a trappola ionica in MS/MS e modalità Single Ion Storage (SIS).

Il GC è stato equipaggiato con una colonna capillare di 30 m di lunghezza VF-5MS Factor Four (Varian, Inc.), con fase stazionaria costituita da phenylpolysiloxano al 5% (diametro interno di 0,25 mm e 0,25 μm di spessore del film) e come gas di trasporto è stato utilizzato Elio in un flusso costante di 1 mL min^{-1} .

Metodo cromatografico

L'iniettore è stato mantenuto a 290 °C e 0,5 μl di estratto sono stati immessi in modalità split-less con i.d. liner di 2 mm, la temperatura è stata programmata a 90°C x 3', 100°C/min fino a 120°C, 5°C/min fino a 300°C e 300°C per 20', l'interfaccia è stata mantenuta a 300 °C e la trappola ionica a 220 °C. Il rivelatore ha operato in modalità EI.

Per alcuni analiti il processo MS/MS è stato effettuato tramite dissociazione indotta da collisione o CID, per i restanti i risultati migliori sono stati ottenuti in modalità SIS

La quantificazione degli IPA è stata effettuata utilizzando la calibrazione con gli standard interni su otto livelli, che variavano da un 1 ng campione⁻¹ (20 $\text{pg } \mu\text{l}^{-1}$) a 500 ng campione⁻¹ (10 $\text{ng } \mu\text{l}^{-1}$).

La quantificazione dei PRC è stata valutata dopo diluizione del campione tramite calibrazione con standard interni su cinque livelli, che variavano da 10 ng campione⁻¹ (50 $\text{pg } \mu\text{l}^{-1}$) a 2000 ng campione⁻¹ (10 $\text{ng } \mu\text{l}^{-1}$).

Determinazione strumentale dei Policlorobifenili (PCB)

Metodo cromatografico:

Per quanto riguarda i PCB sono stati analizzati gli estratti purificati e per ¹³C₁₂-PCB è stato utilizzato lo stesso metodo descritto per gli IPA. In particolare l'estratto (0.5 μl) è stato iniettato in modalità split-less, 0.20 min con impulso di pressione di 40 psi e i.d. liner di 2 mm i.d., l'iniettore è stato mantenuto a 290 °C e la temperatura programmata come segue: 90°C x 1'; 4°C/min fino a 130°C; 15°C/min fino a 170°C; 2 °C/min fino a 250°; 30°C/min fino a 310°C. L'interfaccia è stata mantenuta a 300°C e la trappola ionica a 220°C, il rivelatore ha operato in modalità EI e il processo MS/MS è stato effettuato utilizzando la modalità CID per tutti gli analiti.

La quantificazione è stata condotta tramite calibrazione con standard interni su sette livelli, che variavano da 1 ng campione⁻¹ (20 $\text{pg } \mu\text{l}^{-1}$) a 50 ng campione⁻¹ (1000 $\text{pg } \mu\text{l}^{-1}$).

Tutti gli standard utilizzati, certificati ai fini della tracciabilità NIST (United States National Institute of Standard Technology), sono stati sottoposti a controlli gravimetrici.

La vetreria è stata pulita con detersivo, acqua di rubinetto e acqua bidistillata prima di essere posta in stufa a 500 °C per una notte, secondo la procedura standard di laboratorio.

I bianchi di trasporto, esposti durante tutte le operazioni di prelievo e di laboratorio, sono stati analizzati al fine di verificare la presenza di eventuali contaminazioni e valutare il livello base dei PRC.

I limiti di rilevabilità sono stati calcolati come tre volte la deviazione standard delle concentrazioni di sette repliche degli analiti pari o inferiori al livello minimo (0,03-2 ng SPMD⁻¹ per IPA e 0,01-0,2 ng SPMD⁻¹ per i PCB), oppure, se più alto, come due volte la concentrazione dell'analita rilevata nel bianco di trasporto.

L'identificazione degli analiti è stata condotta utilizzando il tempo di ritenzione del picco e la presenza degli ioni madre e figlia nello spettro, infine la linearità della calibrazione è stata accettata con $r > 0,99$. Il recupero di fluorantene-d10 sono stati stimati pari a $72,6 \pm 8,8\%$ in.

Ogni quinta iniezione è stata eseguita una procedura di controllo della taratura in continuo ed i risultati sono stati accettati quando i valori riportati erano compresi in un intervallo $\pm 15\%$ del valore reale.

Complessivamente ogni set di campioni di SPMD includeva bianco di trasporto, bianco di fabbrica, bianco di laboratorio (vetreria, silice ecc. tranne il campione), bianco contenente i reagenti in quantità nota, e gli SPMD esposti. Infine la validazione del metodo analitico utilizzato è stata realizzata tramite la partecipazione a circuiti di intercalibrazione Aquaref (Miège *et al.*, 2012).

La concentrazione acquosa degli analiti è stata valutata sulla base di un modello costruito su dati empirici (Huckins *et al.*, 2006).

Le concentrazioni degli analiti in acqua marina sono state calcolate applicando la l'equazione (1) del modello della Chemical Reaction Kinetic (CRK), descritta da Huckins *et al.*, (1993), Booij *et al.* (1998) e Huckins *et al.*, (2006).

Questa equazione descrive l'assorbimento (captazione) degli analiti in ogni stadio del campionamento.

$$C_w = \frac{N}{V_s K_{sw} (1 - \exp(-R_s t / V_s K_{sw}))} \quad (1)$$

Dove C_w (ng L⁻¹) è la concentrazione dell'analita nell'acqua marina, V_s (cm³) è il volume del campionatore, K_{sw} (cm³ cm⁻³) è il coefficiente di ripartizione dell'analita tra

matrice acquosa e SPMD, t è il tempo (d) di esposizione dell'SPMD nell'ambiente e R_S (L d⁻¹) è il tasso di campionamento sito-specifico dell'analita. I valori K_{SW} sono interpolati con un modello di regressione come mostrato di seguito

$$\log K_{SW} = -2.61 + 2.321 \log K_{OW} - 0.1618 (\log K_{OW})^2 \quad (2)$$

R_S può essere influenzato da biofouling, variazioni di temperatura e intensità del flusso acqueo (Booij *et al.*, 1998; Booij *et al.*, 2006b; Richardson *et al.*, 2002).

Di conseguenza i tassi di campionamento sono stati stimati *in situ* con l'uso dei PRC (Huckins *et al.*, 2002; Booij *et al.*, 1998) e l'applicazione di un modello semi empirico (Huckins *et al.*, 2006). Per ogni analita (i), il modello semi empirico è stato il seguente:

$$R_i = R_{PRC} \frac{\alpha_i}{\alpha_{PRC}} \quad (3)$$

dove α è il fattore composto-specifico del tasso di campionamento che può essere estrapolato con un polinomio di terzo ordine ottenuto da un'analisi dei dati sperimentali dei tassi di campionamento di IPA, PCB e pesticidi organo clorurati.

$$\log \alpha_i = 0.0130 (\log K_{OW})^3 - 0.3173 (\log K_{OW})^2 + 2.244 (\log K_{OW}) \quad (4)$$

e R_{PRC} rappresenta il tasso di campionamento *in situ* di un PRC

$$R_{PRC} = V_S K_{SV} (PRC) k_e (PRC) \quad (5)$$

Dove k_e è la costante del tasso di rilascio dei PRC

$$k_e = \left[- \frac{\ln (N/N_0)}{t} \right] \quad (6)$$

dove N e N_0 rappresentano la concentrazione di PRC determinate, rispettivamente, dopo e prima dell'esposizione.

2.3 Diffusive Gradients in Thin Films (DGT)

La tecnica Diffusive Gradients in Thin Films (DGT) (Zhang and Davison, 1995) rappresenta un approccio relativamente nuovo per la determinazione *in situ* di specie metalliche labili negli ecosistemi acquatici.

Nel mezzo acquoso i DGT accumulano passivamente specie labili, ovviando a problemi di contaminazione associati con il campionamento tradizionale. Tale tecnica è inoltre considerata rappresentativa della frazione potenzialmente biodisponibile.

Si basa sull'utilizzo di un semplice dispositivo in plastica che accumula soluti in un legante dopo il passaggio attraverso un idrogel che funge da strato di diffusione.

Il legante selettivo per gli ioni bersaglio in soluzione (in genere una resina) è immobilizzato in un sottile strato di idrogel (binding gel) ed è separato dalla soluzione da uno strato permeabile (gel diffusivo) di spessore Δg .

Tra il gel diffusivo e la soluzione è presente uno strato diffusivo (diffusive boundary layer, DBL), di spessore δ in cui il trasporto di ioni avviene unicamente per diffusione molecolare.

In pochi minuti di immersione, si instaura un gradiente di concentrazione lineare tra la soluzione e la resina (Fig. 5).

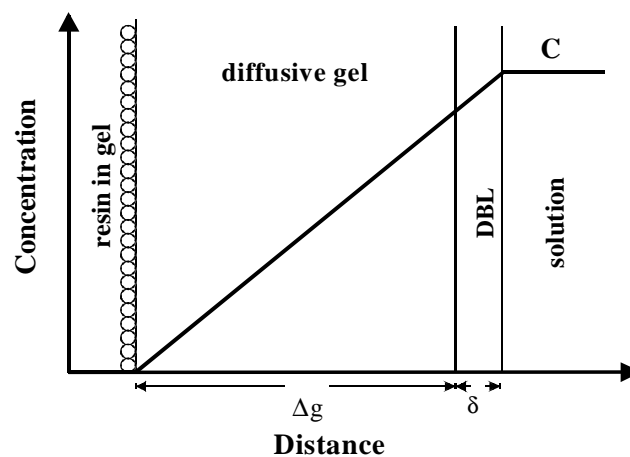


Fig. 5 - Rappresentazione schematica della sezione trasversale di un DGT a contatto con la soluzione acquosa. La larghezza dello strato diffusivo DBL dipende dalla velocità di movimento dell'acqua (DGT Research, 2002).

Sfruttando questa semplice condizione di stato stazionario la tecnica DGT può essere usata per misurare le concentrazioni *in situ*.

In laboratorio, una volta recuperati i DGT, il metallo accumulato può essere eluito e misurato convenzionalmente. Si evitano in questo modo problemi di matrice legati alla

determinazione dei metalli in soluzioni ad elevata forza ionica come l'acqua marina e si possono misurare concentrazioni estremamente basse degli analiti.

I DGT permettono di legare selettivamente soltanto le specie di interesse e di controllarne accuratamente il trasporto. Queste caratteristiche consentono di calcolare, in laboratorio, la concentrazione in soluzione durante il periodo di esposizione.

Sono diversi gli agenti leganti selettivi utilizzabili per diverse sostanze (metalli, metalloidi, fosfati, radionuclidi).

I DGT sono stati forniti da DGT Research Ltd (Lancaster, UK) e l'analisi è stata effettuata in 3 repliche secondo il metodo usato da Zhang e Davison (1995).

In particolare sono stati utilizzati la resina Chelex 100 per la misura di cadmio, piombo, rame, nichel e cromo, e Spheron-Thiol-Agarose gel per il mercurio (Docelakova and Divis, 2005).

Un dispositivo DGT consiste in una base in plastica (piston) di 2,5 cm di diametro, contenente il gel-resina (spessore di 0.4 mm), il gel diffusivo (spessore 0,78 mm) e una membrana filtrante di spessore pari a 0.135 mm, assicurati alla base da una capsula in plastica con una apertura superiore circolare (window) di circa 2 cm di diametro (Fig. 6).

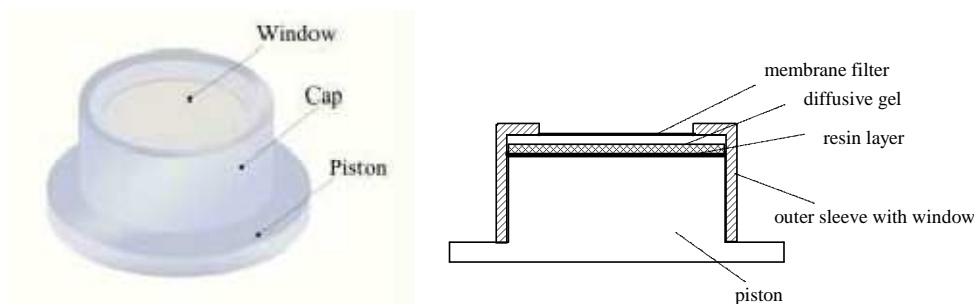


Fig. 6 - Struttura del Diffusive Gradients in Thin Films (DGT) tridimensionale e in sezione.

I DGT vengono depositati nella soluzione acquosa per un tempo determinato t (s).

I metalli presenti nella frazione disciolta in forma ionica o come complessi labili sia inorganici che organici diffondono attraverso il gel e si legano alla resina.

Il flusso di ioni di ciascun metallo attraverso il gel J ($\text{mol cm}^{-2} \text{s}^{-1}$), è dato dall'equazione (semplificata) della prima legge di Fick (1), dove D è il coefficiente di diffusione ($\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$), C la

concentrazione del metallo nel mezzo acquoso e Δg lo spessore dello strato di gel.

$$J = D C / \Delta g \quad (1)$$

Dopo il recupero lo strato di gel contenente la resina legante viene staccato e si misura la massa degli ioni in esso accumulati vengono eluiti con un volume noto, V_e (ml) di soluzione (1 o 2M di HNO_3 nel caso dei metalli legati alla resina Chelex).

La concentrazione nell'eluente, C_e , viene poi misurata con qualsiasi tecnica analitica adatta dopo opportuna diluizione. Poiché l'eluizione è in modalità batch solo una frazione degli ioni legati vengono recuperati.

Il valore di f_e riportato per Zn, Cd, Cu, Ni e Mn è 0.8 quando si usano 1 o 2 M di HNO_3 per l'eluizione dalla resina Chelex. La massa accumulata (M) di ioni può essere calcolata utilizzando la l'equazione (2) dove V_g è il volume di gel (ml) nello strato legante e f_e il fattore di eluizione.

$$M = C_e (V_g + V_e) / f_e \quad (2)$$

La concentrazione di metallo misurata dai DGT può essere calcolata usando l'equazione 3:

$$C_{DGT} = M \Delta g / (DtA) \quad (3)$$

dove Δg è lo spessore del gel diffusive più quello del filtro, D è il coefficiente di diffusione del metallo nell'idrogel alla temperatura misurata nel mezzo acquoso; t è il tempo di esposizione in secondi; A è l'area di esposizione ($A=3.14 \text{ cm}^2$).

La relazione tra la quantità di metalli accumulata dai DGT e la concentrazione in ambiente acquatico è stata verificata in laboratorio da Zhang e collaboratori e ben documentata in bibliografia (Davison e Zhang 1994; Zhang e Davison , 1995; Zhang *et al.* , 1996; Twiss e Moffett, 2002) inoltre hanno anche calcolato i coefficienti di diffusione dei metalli in un ampio range di temperature (DGT Research Ltd, Lancaster, UK).

Le specie chimiche che si accumulano sui DGT, in particolare i complessi sia inorganici che organici, vengono selezionati in base alle dimensioni molecolari e alle cinetiche di dissociazione (Zhang *et al.*, 2000; Zhang *et al.*, 2001).

La capacità di accumulo dei DGT è limitata dalla capacità della resina di legare i metalli.

Generalmente la capacità della resina consente fino a 3 mesi di esposizione in acque costiere moderatamente contaminate prima di giungere a saturazione (Davison e Zhang, 1994).

I DGT possono essere utilizzati in quasi tutti gli ambienti acquatici, dalle acque naturali (laghi, estuari, acque marine) agli scarichi industriali, in quanto la loro risposta rimane inalterata in un ampio range di valori di forza ionica e pH.

Funzionano correttamente in acque con concentrazioni saline comprese tra 1 M e 1 mM, valori che includono praticamente tutte le acque naturali.

Le acque marine e la maggior parte di quelle superficiali sono ambienti ideali in cui utilizzare i DGT. Alcuni dati di letteratura riportano modificazioni delle risposte in soluzioni estremamente diluite, con valori di forza ionica inferiori a 10^{-4} M (Denney *et al.*, 1999; Alfaro-De la Torre *et al.*, 2000; Peters *et al.*, 2003).

Forza ionica, pH e composizione della soluzione possono agire sulla velocità di diffusione, per esempio influenzando il comportamento dei gruppi funzionali della poliacrilammide (idrogel), che potrebbe ionizzarsi.

Le performance della resina Chelex sono più elevate, per la maggior parte dei metalli, in un range di pH tra 5 e 9, anche se per il rame la resina opera correttamente in un intervallo di pH più ampio, compreso tra 2 e 11 (Gimpel *et al.*, 2001).

La temperatura è un parametro molto importante per il funzionamento dei DGT in quanto fa variare i valori dei coefficienti di diffusione dei metalli (Larner *et al.*, 2006). E' necessario quindi effettuare misure di questo parametro durante il periodo di esposizione dei DGT. Le variazioni di temperatura comunque hanno effetto solo sui coefficienti di diffusione e non sulla struttura o le caratteristiche chimiche del gel (DGT Research, 2002).

Un altro parametro da tenere in considerazione è l'idrodinamismo, i DGT non vanno posizionati in zone soggette ad eccessivo moto ondoso ma nemmeno in acque stagnanti.

Il corretto funzionamento di questi dispositivi richiede una corrente con una velocità minima di 0,02 m/s (Forsberg, 2005).

In generale il tempo di deposizione dei DGT dovrebbe essere minimizzato tenendo conto della natura dell'ambiente campionato e della sensibilità del metodo analitico impiegato.

La progressiva crescita algale sulla superficie attiva del campionatore (biofouling) produce infatti un film che limita il trasporto dei metalli.

Inoltre il biofilm può offrire siti di adsorbimento ai metalli disciolti, portando a sottostimare la concentrazione del metallo libero in soluzione.

Sia i meccanismi di assimilazione del metallo negli organismi acquatici che l'accumulo da parte dei DGT sono governati dalla concentrazione del metallo labile in soluzione.

Oltre a fornire una misura *in situ* del metallo labile, i DGT possono essere utilizzati in numerosi altri aspetti di chimica ambientale, inclusi studi di speciazione, di tossicità e di cinetica.

Negli ultimi 15 anni sono stati effettuati numerosi studi, nei quali l'accumulo nei DGT degli elementi in traccia è stato confrontato con la risposta biologica (bioaccumulo, effetti tossici) di organismi appartenenti a specie diverse, sia animali che vegetali (Davison *et al.*, 2000; Forsberg, 2005; Schintu *et al.*, 2008, Schintu *et al.*, 2010; Andersen *et al.*, 2009).

E' importante sottolineare, per quanto riguarda l'interpretazione dei dati, che la metodologia integra la concentrazione dei metalli labili in soluzione durante il periodo di esposizione. Se la variabilità della qualità dell'acqua è bassa, i DGT forniscono un valore comparabile ai convenzionali sistemi di campionamento istantanei.

Se, al contrario, il sistema presenta un grado elevato di variabilità (ex. nel caso della presenza di affluenti in un corpo d'acqua) il risultato del campionamento istantaneo non può essere confrontato con il valore integrato nel tempo fornito dai DGT.

I risultati del campionamento passivo nella matrice acquosa si riferiscono alla sola frazione disciolta o debolmente legata, biodisponibile, dei contaminanti e non a quella totale.

I valori ottenuti rappresentano la concentrazione media dell'analita nel mezzo acquoso durante il periodo di esposizione del campionatore, il che impedisce confronti con eventuali dati preesistenti ottenuti con l'utilizzo di metodi che rilevano la concentrazione totale e sono basati su un campionamento puntuale.

Inoltre non necessariamente i valori di concentrazione misurati nella acque riflettono quelli del sedimento sottostante. Nel caso dei metalli la possibilità di rilascio dai sedimenti dipende da numerose variabili chimiche e chimico-fisiche (es. potenziale redox) e dalla natura del componente del sedimento a cui i metalli sono legati.

La mera determinazione dei metalli nella frazione superficiale del sedimento non permette di trarre conclusioni su eventuali stati di inquinamento, per la definizione dei quali andrebbero approfondite le analisi e valutate le concentrazioni di background.

2.4 Validazione delle metodiche analitiche

Le metodiche analitiche relative al campionamento passivo con DGT e SPMD sono state validate mediante la partecipazione a diversi circuiti internazionali e in particolare:

1) AQUAREF (Laboratoire National de Référence pour la surveillance des milieux aquatiques) ha organizzato uno studio finalizzato alla valutazione del ruolo potenziale e della capacità di diversi tipi di campionatori passivi di rilevare la concentrazione di inquinanti prioritari in acque superficiali e costiere ai sensi della Direttiva 2000/60/EC.

2) International Passive Sampling Inter-laboratory Comparison – IPSIC 2010, uno schema di test di competenza organizzato dall'Institute of Public Health Ostrava della Repubblica Ceca in collaborazione con il CS Lab. In questo studio sono stati esposti in acqua superficiale, in un solo sito, SPMD e DGT con lo scopo di permettere ai laboratori partecipanti di testare le loro prestazioni analitiche e la capacità di misurare concentrazioni di contaminanti rilevanti dal punto di vista ambientale.

3) NORMAN (Network of Reference Laboratories for Monitoring Emerging Environmental Pollutants) in collaborazione con il Laboratorio Europeo DG Joint Research Centre ha organizzato uno studio inter-laboratorio che prevedeva l'uso dei campionatori passivi nel monitoraggio dei contaminanti emergenti. In questo studio 29 laboratori accademici, commerciali e di controllo hanno esposto i propri campionatori in un unico sito, l'effluente di un grande impianto di trattamento municipale.

I risultati permettono la valutazione dei diversi metodi di campionamento passivo nel monitoraggio degli inquinanti emergenti (residui farmaceutici, pesticidi polari, ormoni steroidei, surfattanti fluorurati, triclosan, bisfenolo A e ritardanti di fiamma bromurati).

I risultati saranno utilizzati per indicare agli Stati Membri della UE le applicazioni potenziali del campionamento passivo nel monitoraggio di questi composti nell'ambito del WFD.

2.5 Obiettivi

Lo studio è stato condotto in collaborazione con il Dipartimento di Sanità Pubblica, Medicina Clinica e Molecolare dell'Università di Cagliari, dell'ambito del Progetto Europeo MOMAR (MONitoraggio MARino) - P.O. Italia-Francia "Marittimo" 2007-2013.

Obiettivo di questo progetto di dottorato è stato la messa a punto di un sistema di monitoraggio marino con utilizzo di tecniche di campionamento innovative finalizzate al controllo e alla protezione dell'ambiente marino-costiero, con particolare attenzione per la prevenzione dall'inquinamento.

Sono state quindi fornite informazioni relative alla presenza di contaminanti tossici organici in alcune aree marine protette della Sardegna settentrionale e di contaminanti tossici inorganici in un'area lagunare di particolare interesse naturalistico della Sardegna meridionale, con la sperimentazione del campionamento passivo.

E' opportuno sottolineare che questo studio è stato condotto al fine di valutare l'efficienza di un nuovo sistema di monitoraggio e non di eseguire un elevato numero di campionamenti.

Gli obiettivi specifici di questo studio sono stati i seguenti:

(a) valutare le prestazioni del SPMD nel rilevamento delle concentrazioni di IPA e PCB disciolti in acque marine relativamente incontaminate, nelle quali i metodi analitici classici potrebbero non riuscire a rilevare concentrazioni estremamente basse;

(b) valutare le prestazioni dei DGT nel rilevamento delle concentrazioni di Cadmio, Cromo, Mercurio, Nichel, Piombo e Rame disciolti in acque di transizione;

(c) rilevare sostanze pericolose prioritarie, di natura organica e inorganica, anche a basse concentrazioni (ng/L) in alcune aree marino-costiere della Sardegna;

(d) rilevare eventuali fonti di inquinamento.

CAPITOLO 3

Caratteristiche generali delle sostanze organiche e inorganiche monitorate

3.1 Sostanze organiche

3.1.1 Idrocarburi Policiclici Aromatici (IPA)

Gli IPA rappresentano una vasta classe di composti idrocarburici costituiti dalla fusione di due o più anelli benzenici e contenente esclusivamente atomi di carbonio e idrogeno.

Fin dagli anni '90, solo alcuni IPA sono stati definiti dall'EPA (Environmental Protection Agency) "priority pollutants", sostanze meritevoli di valutazione e monitoraggio specifici, soprattutto in riferimento alla tossicità cronica ed alla cancerogenicità, probabile o possibile (Phillips DH, 1999). In particolare oggi sono stati indicati 16 IPA alcuni dei quali cancerogeni (Tab. 1)

Tab.1 - Sedici IPA "priority pollutants" dall'US-EPA classificati in base alla cancerogenicità (IARC, 2008).

IPA "Priority Pollutants " (US-EPA)	Classe IARC
Benzo[a]pirene	1
Dibenzo[ah]antracene	2A
Benzo[a]antracene	2B
Benzo[b]fluorantene	2B
Benzo[k]fluorantene	2B
Crisene	2B
Indeno[123-cd]pirene	2B
Benzo[ghi]perilene	3
Antracene	
Acenaftene	
Acenaftilene	
Fluorantene	
Fluorene	
Naftalene	
Fenantrene	
Pirene	3

1 = cancerogeno dimostrato per l'uomo; 2A = cancerogeno probabile per l'uomo (limitata evidenza per l'uomo e sufficiente evidenza per gli animali); 2B = cancerogeno possibile per l'uomo (limitata evidenza per l'uomo e insufficiente evidenza per gli animali); 3 = sostanze non classificabili per la cancerogenicità per l'uomo (sostanze che non rientrano in nessun'altra categoria prevista); 4 = Non cancerogeni per l'uomo.

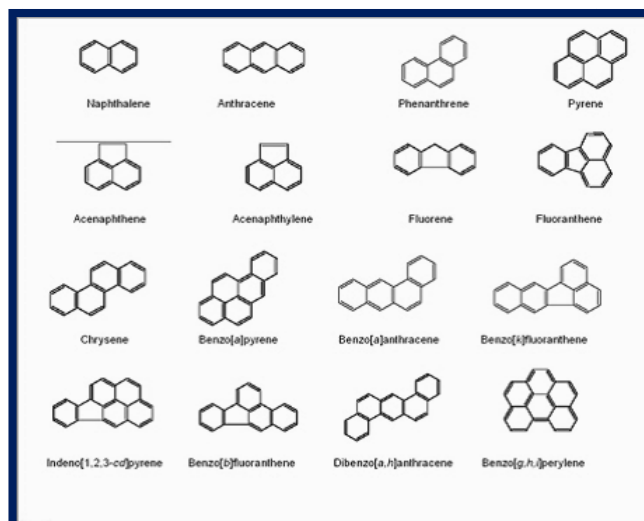


Fig. 7 - Struttura chimica dei 16 IPA “priority pollutants” (Amir *et al.*, 2005).

Gli IPA vengono introdotti nell’ambiente attraverso un vasto numero di processi, riconducibili a tre principali tipologie di sorgenti: petrogeniche, pirogeniche e biogeniche (Stout *et al.*, 2001). Gli IPA di origine petrogenica (petrogenic PAHs, petroleum-PAHs) rappresentano una frazione variabile della composizione chimica dei combustibili fossili. Questo tipo di origine implica una formazione diagenetica caratterizzata da temperature relativamente basse (100-150°C) e tempi di formazione su scala geologica (milioni di anni). Carbone, petrolio grezzo e scisti bituminosi contengono elevate concentrazioni di questi composti (WHO, 1998): basti pensare che lo sversamento accidentale di petrolio rappresenta la principale fonte di IPA nel comparto acquatico su scala globale (Eisler, 1987).

Gli IPA di origine pirogenica sono, invece, generati dalla combustione incompleta o dalla pirolisi di sostanza organica in genere. Il meccanismo di formazione degli IPA durante il processo di combustione è dovuto principalmente alla ripolimerizzazione di frammenti di idrocarburo che si formano durante il processo noto come cracking (Mc. Cready, 2000), vale a dire la frammentazione in numerose parti delle molecole ad alto peso molecolare del combustibile.

Le principali sorgenti fisse in cui possono avvenire simili reazioni sono:

- riscaldamento domestico a carbone, olio minerale o legna;
- impianti termoelettrici;
- fuochi all’aperto quali incendi boschivi o la bruciatura di stoppie;

- incenerimento di rifiuti solidi urbani;
- impianti di gassificazione e cokefazione del carbone;
- produzione di alluminio mediante il processo Soederberg;
- altri processi termici dell'industria metallurgica, quali la produzione di ferro e acciaio.

Le sorgenti mobili sono invece rappresentate dal traffico veicolare.

L'emissione di IPA da veicoli a motore è considerata una delle maggiori sorgenti di questi contaminanti nelle aree urbane e dipende da fattori quali il tipo e la composizione di carburante usato, la temperatura di utilizzo e la presenza di dispositivi di trattamento degli scarichi.

Per IPA di origine biogenica si intendono, infine, quei composti formati in tempi recenti tramite biosintesi *de novo* o tramite diagenesi a partire da precursori di origine biologica.

La biosintesi *de novo* di IPA da parte di batteri aerobi o anaerobi, funghi o piante è controversa (Brooks, 2000; Neff, 1979; Parlati, 1990). In molti casi in cui essa viene riportata, l'accumulo di IPA negli organismi che si presumono averli sintetizzati può essere attribuito a sorgenti esterne (Brooks, 2000). La diagenesi rapida di alcuni IPA si ha quando composti come terpeni, chinoni e altri policiclici, per lo più pigmenti vegetali, sono esposti a condizioni di tipo riducente. Un chiaro esempio di questo tipo di origine è rappresentato dal perilene, per cui la formazione *in situ* all'interno di sedimenti anossici è considerata essere la maggiore sorgente, soprattutto in strati sub-superficiali, non influenzati da apporti di tipo pirogenico (Silliman, 2001). Sebbene sia possibile un'origine naturale degli IPA, dovuta a incendi naturali, eruzioni vulcaniche, diagenesi, è largamente accettata l'idea che l'origine antropica sia la più importante. Questa tesi trova conferma nell'aumento dei flussi di sedimentazione annuali di tali composti rilevati nei sedimenti di laghi di alta quota europei.

Gli IPA sono generalmente prodotti da processi naturali ed antropici e possono essere introdotti nell'ambiente attraverso percorsi diversi.

Il contributo antropico, che comprende processi di combustione incompleta, perdite di petrolio, scarichi di acque reflue domestiche e industriali, così come la ricaduta atmosferica dei gas di scarico dei veicoli e le emissioni industriali, ha provocato un significativo accumulo di IPA in ambiente acquatico.

Negli ambienti fluviali e marini tali composti possono degradarsi in superficie attraverso processi di fotossidazione (Guitart *et al.*, 2007), ed in acque profonde e sedimenti, attraverso il metabolismo microbico (Cerniglia and Heitkamp, 1989).

L'immissione di IPA in mare, oltre alle deposizioni atmosferiche, può essere dovuta a dilavamento della rete stradale, scarichi industriali, raffinerie e ai pozzi offshore (Ferrara *et al.*, 2004), ma anche alla attività diportistiche.

Lo studio degli IPA in ambienti costieri riveste grande importanza in quanto tali aree sono biologicamente attive e ricevono notevoli immissioni di inquinanti attraverso scarichi costieri che minacciano, tra gli altri effetti negativi, le risorse biologiche.

3.1.2 Policlorobifenili (PCB)

I POPs comprendono inquinanti di origine ambientale, tra cui diossine, pesticidi organo clorurati e policlorobifenili.

Nel 1996 il comitato scientifico dell'International Federation of Classification Society (IFCS) ha richiesto la messa al bando internazionale di specifici Inquinanti Organici Persistenti (POPs), nel maggio del 2001, a Stoccolma, 92 Paesi hanno firmato l'omonima Convenzione, adottando un testo che prevede misure di controllo, restrizioni alla produzione, uso e successiva eliminazione di una prima lista di sostanze o classi di sostanze tossiche, prodotti e sottoprodotti chimici industriali tra cui, diossine e PCB (Regolamento 850/2004 CE; Decisione 2006/507/CE). Nel 2010 sono stati apportati ulteriori emendamenti alla Convenzione di Stoccolma e all'elenco dei POPs, che è stato recentemente aggiornato ai sensi dei Regolamenti della Commissione Europea 519/2012/UE e 126/2013/CE.

Caratteristiche comuni ai POPs sono rappresentate da tendenza a persistere nell'ambiente e nel corpo umano a causa di una elevata stabilità e scarsa reattività con altre molecole organiche che rendono estremamente difficile la loro degradazione, sono bioaccumulabili e lipofili, hanno un'ampia gamma di effetti tossici e sono soggetti a trasporto su lunghe distanze.

Pertanto i POPs, o loro metaboliti, vengono accumulati nei comparti biotici e abiotici degli ecosistemi; sono stati, infatti, individuati nella maggior parte delle matrici ambientali analizzate, come sedimenti ed aria e negli organismi terrestri ed acquatici, compreso l'uomo (Armitage *et al.*, 2007).

Tramite i movimenti delle masse di acqua ed aria, i POPs sono stati trasportati anche in regioni del pianeta dove non erano mai stati utilizzati. Le elevate concentrazioni rilevate nei pesci del mar Artico (Muir *et al.*, 1992) e nelle acque marine e organismi dell'Antartide (Corsolini *et al.*, 2002) sono alcuni degli esempi che sottolineano l'importanza del Long Range Transport.

Tra i POPs notevole importanza è rivestita dai policlorobifenili (PCB) verso i quali sono state poste in essere numerose azioni per ridurre o eliminare il loro rilascio nell'ambiente.

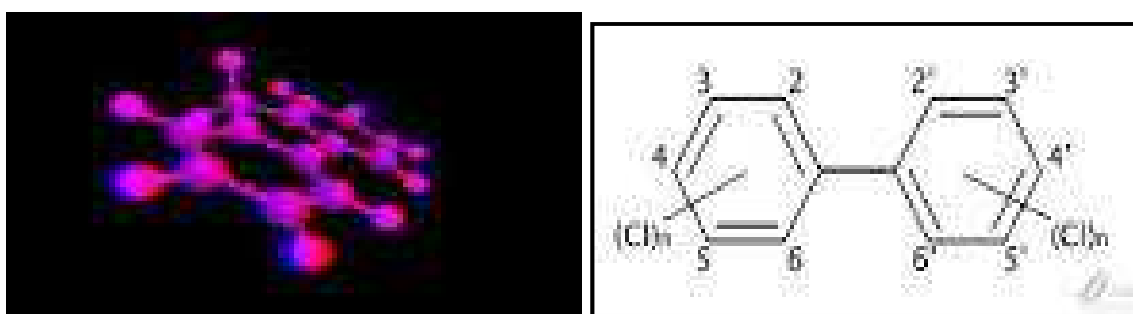
I PCB, sintetizzati negli Stati Uniti verso la fine degli anni '20, vennero prodotti su larga scala raggiungendo un grande interesse commerciale verso l'inizio degli anni '50 nei principali paesi industrializzati (Giappone, Germania, Inghilterra, Francia, Italia e Spagna). In particolare l'Italia iniziò a produrli dal 1938 (Ruzzenenti, 1993). Nel 1972 è stato vietato

l'impiego di PCB in sistemi aperti, ossia vernici, masse di sigillatura, stoffe e carta. Solo nel 1996 ai sensi della Direttiva 96/59/CE è entrato in vigore il divieto generale di impiego dei PCB.

I PCB sono una classe di idrocarburi clorurati non polari con formula $C_{12}H_{10-n}Cl_n$ in cui gli atomi di idrogeno possono essere sostituiti da 1 a 10 atomi di cloro (Figg. 8, 9).

La famiglia dei PCB comprende 209 congeneri, distinti in relazione al diverso numero di atomi di cloro e alla disposizione degli stessi.

La notevole inerzia verso altri composti e l'elevata resistenza al calore sono state sfruttate in diverse applicazioni industriali: a) fluidi dielettrici in accumulatori e trasformatori (circa il 77% dell'utilizzo) con scarse perdite nell'ambiente; b) fluidi in radiatori e sistemi idraulici con frequenti perdite nell'ambiente; c) lubrificanti, additivi di pesticidi, adesivi, carta copiatrice, composti plastici, vernici (Pavan *et al.* 2003).



Figg. 8, 9 - Policlorobifenile (PCB) struttura chimica.

I PCB sono ampiamente diffusi nell'ambiente, presenti nei materiali in cui sono stati impiegati, gettati nell'ambiente come rifiuti e dispersi, sulle lunghe distanze, dall'aria e dalle acque superficiali e profonde, sono presenti seppure in piccolissime dosi in tutti gli organismi viventi, introdotti principalmente attraverso l'alimentazione.

La loro pericolosità consiste nella persistenza nell'ambiente come composti di partenza o come sottoprodotti, spesso più pericolosi di composti iniziali.

In condizioni ambientali tipiche i PCB tendono alla bioconcentrazione e presentano un processo di biomagnificazione, raggiungendo concentrazioni potenzialmente rilevanti che rappresentano una minaccia per la salute umana e per l'ambiente. La pericolosità dei PCB è stata compresa solo in tempi recenti e per molti anni sono stati smaltiti senza alcuna precauzione volta a contrastarne la diffusione ambientale.

Grandi quantità di PCB sono state, infatti, introdotte nell'ambiente mediante combustione o parziale incenerimento, tramite evaporazione da vernici e plastiche, scarico diretto in fogne e

corsi d'acqua, eliminazione in discarica in forma non controllata, senza una distruzione completa del materiale (ATDSR, 1993).

La legislazione attuale riguardante i PCB nelle acque marino costiere “prevede l'obbligo del controllo dei sedimenti in considerazione del fatto che per dette sostanze non è stato individuato lo standard di qualità ambientale della colonna d'acqua” (D.M. 260/2010).

3.2 Sostanze inorganiche

3.2.1 Metalli Cd, Cr, Hg, Ni, Pb e Cu

I metalli sono introdotti nei sistemi acquatici come conseguenza dell'erosione di terreni e rocce, dalle eruzioni vulcaniche e da diverse attività umane che coinvolgono estrazione mineraria, trattamento o uso di metalli o sostanze che contengono metalli inquinanti.

Quando il pH dell'acqua diminuisce, la solubilità del metallo aumenta e le particelle del metallo diventano più mobili.

Tra gli elementi in traccia rilasciati ed immessi in ambiente acquatico, alcuni, come rame (Cu), zinco (Zn) e ferro (Fe), sono essenziali per il metabolismo degli organismi viventi (Rainbow, 1988; Bustamante *et al.*, 2000; Canli and Atli, 2003), in quanto coinvolti nelle funzioni metaboliche (Barkay *et al.*, 1992).

Altri elementi giocano un ruolo importante nei meccanismi di detossificazione, come costituenti del nucleo dei gruppi prostetici delle metallotioneine (MT), proteine citoplasmatiche con un basso peso molecolare e un alto (30%) contenuto in cisteina (Chan, 1994), che svolgono un ruolo fondamentale nei processi di regolazione dei metalli essenziali, quali zinco e rame, e di detossificazione da metalli pesanti come cadmio (Cd) e mercurio (Hg) (Kagi e Schaffer, 1988), limitando la tossicità di determinati composti (Olafson, 1984; Hobman *et al.*, 2000).

I metalli definiti non essenziali tra cui cadmio, mercurio, nichel (Ni) e piombo (Pb) (Jewett *et al.*, 2000), non hanno ruoli riconosciuti nei sistemi biologici (Canli and Atli, 2003) ed esplicano un'azione tossica osservabile anche a basse concentrazioni, rappresentando un alto rischio per la salute dell'uomo (Barkay *et al.*, 1992; Edwards *et al.*, 2001) e degli organismi animali e vegetali.

Cadmio, cromo, mercurio e piombo rientrano nella categoria dei metalli pesanti, i quali sono caratterizzati da densità $>5,0 \text{ g/cm}^3$, bassa solubilità dei loro idrati, spiccata attitudine a formare complessi, affinità verso i solfuri e tendenza a comportarsi come cationi (Duffus J.H., 2002).

Tali contaminanti possono essere fisicamente o chimicamente "legati", al punto da non essere biodisponibili, oppure facilmente mobilizzabili ed in tal caso possono modificare direttamente una gran varietà di fattori su micro e macro-scala (U.S. Army Corps of Engineers (COE) & Environmental Protection Agency (EPA), Region II, 1984).

La tendenza di tali elementi ad accumularsi e concentrarsi nei tessuti degli organismi marini è ampiamente dimostrata (White and Rainbow, 1982; Bacci and Gaggi, 1998; Sandor *et al.*, 2001; Canli and Atli, 2003; Mishra *et al.*, 2007), e in particolar modo nelle specie all'apice delle reti trofiche (Storelli *et al.*, 2001; Domi *et al.*, 2005; Coelho *et al.*, 2008; Suk *et al.*, 2009), spesso destinate al consumo diretto o indiretto da parte dell'uomo (Das *et al.*, 2003; Debacker *et al.*, 2001; Kai *et al.*, 1978; Meaburn, 1978; Das *et al.*, 2000; Storelli *et al.*, 2001).

E' noto infatti che la predazione produce un trasferimento energetico verso l'alto (Mearns, 1982) e un flusso di contaminanti persistenti con traslocazione dal livello trofico inferiore a quello superiore (Mathews *et al.*, 2008), subendo processi di bioaccumulo e biomagnificazione (Young *et al.*, 1980).

Recentemente è stato evidenziato come elevate concentrazioni di questi elementi risultino trovarsi in specie ittiche di interesse commerciale del Mar Mediterraneo (Langston, 1990; Kalay *et al.*, 1999; Canli *et al.*, 2003; Papetti *et al.*, 2009) e come i valori di accumulo dei metalli pesanti siano un indicatore dello stato di salute della specie marine, Fossi *et al.* (2001, 2004) hanno infatti dimostrato gli effetti tossicologici degli endocrine disrupters (PCB, organo clorurati, Pb, Hg, Cd) su specie nectoniche.

Inoltre i metalli pesanti hanno una notevole rilevanza sanitaria e sono riconosciuti come importanti agenti cancerogeni dalla IARC che inserisce cadmio, cromo e nichel nella classe 1 (Tab. 2).

Tab. 2 - Classificazione dei metalli in relazione alla cancerogenicità (IARC, 2008).

Metalli	Classe IARC *
Cadmio e composti	1
Cromo	1
Mercurio e composti inorganici	3
Nichel	1
Piombo e composti	2B
Rame	-

*Classi

- 1 = cancerogeno dimostrato per l'uomo
- 2A = cancerogeno probabile per l'uomo (limitata evidenza per l'uomo e sufficiente evidenza per gli animali)
- 2B = cancerogeno possibile per l'uomo (limitata evidenza per l'uomo e insufficiente evidenza per gli animali)
- 3 = sostanze non classificabili per la cancerogenicità per l'uomo (sostanze che non rientrano in nessun'altra categoria prevista)
- 4 = non cancerogeni per l'uomo

Di seguito sono riportate le caratteristiche principali di Cd, Cr, Hg, Ni, Pb e Cu.

Cadmio (Cd)

Il cadmio è un elemento raro della crosta terrestre dove è presente ad una concentrazione media di 0.1 mg/kg (GESAMP/IMO/FAO/UNESCO/WMO/IAEA/UN/UNEP, 1984; WHO, 1992).

Le principali fonti di contaminazione di origine antropica sono associate alle attività minerarie, alle industrie metallurgiche, alle acque reflue e all'uso di fertilizzanti prodotti con fosfati di origine minerale (WHO, 1992), alle industrie di vernici e smalti e alle industrie della galvanoplastica. Circa il 50% del cadmio che raggiunge le acque marine proviene da attività antropiche; lo ione Cd^{++} , più tossico del Cd^+ si riscontra abbondantemente nelle acque marine dove tende a formare complessi stabili con gli ioni Cl^- (WHO, 1992).

I molluschi tendono ad accumulare il cadmio in quantità nettamente superiori rispetto agli altri organismi, questo potrebbe dipendere dal fatto che il cadmio viene assimilato attraverso gli stessi processi metabolici del rame elemento essenziale nella formazione dell'emocianina (Cognetti, 1992).

Nell'ambiente acquatico il cadmio viene trasferito dai sedimenti e si concentra specialmente nel fitoplancton, nelle macrofite e di conseguenza nei crostacei e nei molluschi.

Nei pesci i fattori di accumulo sono più bassi e il metallo si concentra principalmente nel rene e in porzioni non edibili per il consumatore come le branchie e l'epatopancreas (Demirak *et al.*, 2006).

Gli effetti principali nell'uomo sono rappresentati da patologie tumorali, danni al sistema immunitario, danni genetici, del sistema nervoso centrale e riproduttivi con riduzione della fertilità.

Nelle specie ittiche il cadmio provoca danni all'apparato gastro-enterico, neurotossicità, e danni al sistema immunitario.

Cromo (Cr)

Il cromo è uno degli elementi più diffusi in natura e può essere presente nell'ambiente acquatico come Cr^{3+} e come Cr^{6+} . In acque marine ben ossigenate il Cr^{6+} è la forma dominante mentre il Cr^{3+} è più abbondante nelle acque costiere; inoltre il Cr^{6+} è molto solubile in acqua e viene scarsamente adsorbito (WHO, 1988a). In genere, gli alimenti rappresentano la principale fonte di assunzione (WHO, 1993). Il cromo esavalente è assorbito nel tratto gastrointestinale più velocemente del cromo trivalente e attraversa facilmente le membrane cellulari.

Il Cr^{3+} è un elemento essenziale nel metabolismo lipidico e glucidico. La IARC ha classificato il Cr^{3+} nel gruppo 3, (non classificabile in base alla sua cancerogenicità, il Cr^{6+} , sulla base delle evidenze di cancerogenicità per inalazione, nel gruppo 1 (WHO, 1993).

Il Cr^{6+} è risultato positivo in una serie di test di genotossicità, diversamente dal Cr^{3+} . Il WHO ha definito un valore di linea guida provvisorio per l'acqua potabile di 0,05 mg/l (WHO, 1993).

Principali effetti sull'uomo sono danni a carico dell'apparato digerente, escretore e circolatorio, danni al tessuto nervoso; analoghi effetti si riscontrano nelle specie ittiche.

Mercurio

Le fonti naturali principali di mercurio sono il degassamento della crosta terrestre, le emissioni dei vulcani e l'evaporazione da corpi naturali di acqua.

Le fonti principali di emissione di mercurio nell'atmosfera sono causate dalla combustione del carbone, dai processi produttivi dei cementifici, dalla lavorazione del cloro nelle celle a mercurio, dalla produzione di metalli non ferrosi e dall'incenerimento dei rifiuti urbani.

I prodotti con il maggiore contenuto di mercurio smaltiti con i rifiuti urbani sono le batterie, le lampade a fluorescenza, i termometri e gli amalgami delle cliniche dentistiche (Umweltbundesamt e TNO, 1997)

Il mercurio è principalmente presente nell'atmosfera allo stato gassoso in una forma relativamente non reattiva, nella quale può rimanere per un periodo di circa 1 anno, trascorso il quale la sua emissione, trasporto e deposito rappresentano un problema globale.

L'UNEP ha stimato che circa il 65% delle riserve di mercurio mondiali sono presenti nel bacino del Mediterraneo (ISS, 2004).

I composti mercuriosi (Hg^+) hanno in mare breve persistenza, in quanto si trasformano in ioni mercurici (Hg^{++}) (Cognetti, 1992). La flora microbica trasforma il mercurio metallico, i suoi ioni e i suoi complessi in metilmercurio, molto tossico.

Negli organismi acquatici il 90-99% del mercurio è presente come metilmercurio (WHO, 1990, 1991) e i pesci possono concentrare questa sostanza assumendola dall'acqua e dagli alimenti. Il metilmercurio entra nella catena alimentare attraverso il plancton, passa negli invertebrati e nei pesci situati ai più bassi livelli della catena trofica per accumularsi poi nei grandi predatori che si trovano al top (Storelli *et al.*, 2005).

Un contributo rilevante di assunzione del mercurio da parte dell'uomo è associato al consumo di prodotti ittici, nei quali come appena menzionato è presente in gran parte come metilmercurio.

Visto l'impatto diretto sulla catena alimentare, l'utilizzo industriale di mercurio è stato

notevolmente ridotto (industria elettronica e farmaceutica) e quello agricolo è stato completamente bandito. Inoltre sono state adottate misure specifiche volte all'abolizione dell'uso del mercurio nell'industria dei cloro-alcali, al fine di ridurre le immissioni nell'ambiente attraverso la graduale cessazione del loro impiego nei prodotti di consumo e l'introduzione di nuove tecnologie. Un esempio riuscito di prevenzione è la graduale riduzione di alcuni metalli pesanti nelle batterie, quali mercurio e cadmio, grazie alla quale si può ottenere una migliore riciclabilità e una minore dispersione delle sostanze pericolose nell'ambiente (EEA/OPOCE, 2007).

Il mercurio non ha effetti noti sulla biochimica o fisiologia umana e non si trova naturalmente negli organismi viventi. Danneggia il sistema nervoso centrale, ha effetti sulla struttura nucleotidica del DNA e può alterare le capacità riproduttive, comportando quindi, nelle specie ittiche, una riduzione delle capacità di adattamento e del loro stato di salute.

Nichel (Ni)

Il nichel è un elemento molto diffuso in natura, nella crosta terrestre si trova ad un livello medio di circa 75 mg/kg (WHO, 1991). Nell'aria è presente essenzialmente nella forma di aerosol particolato. Il nichel è utilizzato principalmente per leghe metalliche resistenti e duttili, per le batterie ricaricabili, per catalizzatori, come metallo da conio, per prodotti di fonderia e placcatura. E' facile da lavorare e può essere modellato in fili; resiste alla corrosione e alle alte temperature per cui è usato nelle turbine a gas e nei motori.

La presenza del nichel in ambiente acquatico è dovuta a deposizioni atmosferiche, all'immissione di scarichi industriali e urbani e all'erosione di rocce e suoli.

Gli ioni nichel si trovano liberi o combinati in complessi inorganici e organici solubili, che tendono ad essere adsorbiti da argilla, materia organica, acidi umici, ossidi di ferro e manganese (Richter and Theiss, 1980). Nelle acque marine circa il 40% del nichel totale si trova sotto forma di ione libero, il 60% è presente come complessi disciolti (Richter and Theiss, 1980; IARC 1990).

In ambiente marino la concentrazione di ioni nichel aumenta con l'aumentare della salinità. Una esposizione al nichel di lunga durata può causare riduzione del peso, danni al fegato e al cuore ed irritazioni cutanee.

Il nichel può accumularsi nella vita acquatica, ma la sua presenza non è amplificata nei cicli alimentari.

Piombo (Pb)

Il Piombo è un metallo molto diffuso in natura, nella crosta terrestre si trova a livello di circa 13 mg/kg. Viene rilasciato nell'atmosfera durante processi di fusione dell'acciaio, combustione dei carburanti fossili e delle benzine (WHO, 1995).

Fa parte di un gruppo di elementi che non risultano biomagnificabili, quindi non è assunto, o solo in minima parte, tramite la dieta (Hodson *et al.*, 1978).

Il piombo giunge in mare per effetto del dilavamento superficiale del suolo, anche se il contributo maggiore è attribuibile alle ricadute atmosferiche (fall-out). Il principale meccanismo che regola la concentrazione di piombo in ambito acquatico è l'adsorbimento ai sedimenti o al particolato (WHO, 1995). Il piombo inorganico si trova nell'acqua allo stato di ossidazione +2 e la sua concentrazione naturale in acqua di mare varia considerevolmente, nelle acque oceaniche sono state rilevati livelli di piombo di 5-50 ng/L, nelle acque costiere situate in prossimità di aree industriali e di immissioni fluviali sono stati riportati livelli di 25-125 ng/l (WHO, 1995). In Europa tra il 1990 e il 2003 i livelli di piombo nell'aria ambiente risultano diminuite del 50-70 % . Sono state osservate diminuzioni simili per la deposizione atmosferica (WHO, 2007)

Negli ultimi anni, l'assunzione di tale contaminante per via alimentare è in diminuzione a seguito delle misure preventive intraprese. (ISS, 2004). Principali effetti sull'uomo sono rappresentati da danni all'emoglobina e conseguente anemia, danni renali, danni al SNC, all'apparato riproduttore con riduzione della fertilità. Patologie analoghe si riscontrano nelle specie ittiche esposte a contaminazione con particolare riferimento alla neurotossicità e alle immunodeficienze.

Rame (Cu)

Il rame viene impiegato nelle industrie elettriche, come antiparassitario in agricoltura e come algicida ed antifouling nelle vernici (ISS, 2004). Si trova nelle acque superficiali principalmente nella forma ossidata, la forma ionica libera sembra essere la più tossica per gli organismi acquatici (Cognetti, 1992). In Europa i livelli di sicurezza per la presenza del rame nelle acque dolci e marine sono rispettivamente di 7.8 e 2.6 µg/l inoltre i livelli di rame effettivamente misurati in Europa nelle acque, nei sedimenti e nei suoli risultano generalmente molto al di sotto di queste soglie di sicurezza (Loconsolo *et al.*, 2012). Il rame è una sostanza essenziale per la vita umana, ma in dosi elevate può causare anemia, danni a reni e fegato ed irritazione dell'apparato gastroenterico. Concentrazioni elevate nell'acqua potabile provengono dalle tubazioni in rame e dagli additivi destinati al controllo dello sviluppo algale.

CAPITOLO 4

Sperimentazione di SPMD nelle acque marino-costiere della Sardegna settentrionale

4.1 Isola dell'Asinara e Arcipelago de La Maddalena

4.1.1 Introduzione

L'isola dell'Asinara ha un'area di circa 51 km² ed è separata dalla terraferma da uno stretto canale. Dal 1885 al 1997 è stata sede di un carcere di sicurezza, con divieto di accesso al pubblico e alle attività di pesca. Dal 2002 è Area Marina Protetta (AMP) con una estensione di 111 Km², ai sensi del Decreto Ambiente e Tutela del Territorio del 13 agosto 2002.

Sebbene vi siano numerose restrizioni nel tentativo di salvaguardare il suo ecosistema, l'AMP è attualmente meta turistica.

Nel Golfo dell'Asinara risiede la città di Porto Torres la cui area industriale accoglie un impianto petrolchimico e termoelettrico (Baumard *et al.*, 1998) a causa dei quali è stata inserita nell'elenco dei Siti di Importanza Nazionale (SIN) e sottoposta a lavori di bonifica ai sensi della D. Lgs. 152/2006.

Il Parco Nazionale dell'Arcipelago de La Maddalena, istituito ai sensi della L. n. 10 del 4/01/1994, è costituito da un arcipelago di piccole isole granitiche completamente deserte, o con insediamenti umani di scarsa entità, ad eccezione de La Maddalena, che conta circa 16.000 abitanti, è collegata alla Sardegna tramite un servizio di traghetti ed è un importante centro turistico. L'AMP ha una estensione di 150.46 Km².

Tra il 1972 e il 2008 La Maddalena ha ospitato una base navale degli Stati Uniti che, dopo la fine delle attività militari, è stata oggetto di progetti di bonifica tuttora in corso.

Le AMP Isola dell'Asinara e Arcipelago de La Maddalena sono esposte al traffico marittimo dello Stretto di Bonifacio, in particolare l'elaborazione dei dati Vessel Traffic Service VTS-Bonifacio Traffic, relativi al periodo 2000-2009, indica un traffico medio di circa 3.500 unità navali/anno (<http://www.seaforecast.cnr.it/sosbonifacio/index.php/Il-Progetto/sinistri-marittimi-e-oil-spill.html>.)

In questo studio sono state rilevate le concentrazioni di Idrocarburi Policiclici Aromatici (IPA) e i Policlorobifenili (PCB), considerate tra le sostanze inquinanti più tossiche presenti

nell'ambiente marino.

Infatti IPA e PCB vengono facilmente adsorbiti dalle particelle di sedimento in quanto relativamente non polari e caratterizzati da una bassa solubilità in nel mezzo acquoso (Landrum, 1989; Kukkonen *et al.*, 1996).

Tuttavia, in caso di acqua marina, solo il potenziale chimico e i flussi di diffusione sono correlati alla frazione disciolta (Gustafson *et al.*, 1997).

4.1.2 Materiali e metodi

Il monitoraggio è stato effettuato in n. 2 siti (AS1, AS2) dell'AMP dell'Isola dell'Asinara, in n. 2 siti (LM1, LM2,) nell'AMP dell'Arcipelago de La Maddalena e n. 1 (LM3) a La Maddalena (Fig. 10).



Fig. 10 - Siti di campionamento Isola Asinara, Arcipelago La Maddalena.

In particolare nei siti AS i campionatori sono stati esposti tra marzo e aprile 2011 e in quelli LM in settembre-novembre 2010 (a) e marzo-aprile 2011 (b).

L'esposizione degli SPMD è variata da 34-41 giorni.

Inoltre il campionario situato in LM3 (b) è andato perduto, probabilmente per un atto vandalico (Tab. 3).

Tab. 3 – Siti di campionamento e tempi di esposizione dei campionatori passivi (SPMD)

Denominazione	Sito	Lat	Lon	Periodo campionamento
Isola Asinara Cala reale	AS1	41.061211	8.291325	mar-apr 2011
Spalmatore	AS2	40.984954	8.232500	mar-apr 2011
Spargiotto	LM1	41.253806	9.319408	mar-apr 2011
Spargi	LM2	41.233851	9.355595	set-nov 2010 mar-apr 2011
La Maddalena	LM3	41.211394	9.428949	set-nov 2010 mar-apr 2011*

* perso

Al fine di valutare il tempo di ritenzione in cromatografia a permeazione di gel (GPC), sono stati utilizzati i seguenti standard di calibrazione: naftalene (99 %, grado scintillazione), coronene (95 %), zolfo (99,999 %), bifenile (99 %) e bis - (2-etilexil) ftalato.

Gli standard interni e i Performance Reference Compounds (PRC) sono stati i seguenti: acenaftilene-d8, fluorene-d10, crisene-d12, benzo[e]pirene-d12, pirene-d10, fluorantene-d10 fenantrene-d10, acenaftene-d10, perilene-d12, decaclorobfenile, tetrachloro-m-xylene, $^{13}\text{C}_{12}\text{PCB-1}$, $^{13}\text{C}_{12}\text{PCB-8}$, $^{13}\text{C}_{12}\text{PCB-37}$ e $^{13}\text{C}_{12}\text{PCB-54}$.

La miscela standard degli analiti per gli IPA era costituita da naftalene (Naph), acenaftilene (Aceph), acenaftene (Ace), fluorene (Fl), fenantrene (Phen), antracene (Ant), fluorantene (Flu), pirene (Pyr), benzo[a]antracene (BaA), crisene (Chr), benzo[b]fluorantene (BbF), benzo[k]fluorantene (BkF), benzo[a]pirene (BaP), benzo[e]pirene (BeP), perilene (Per), indeno[1,2,3-cd]pirene (InP), benzo[ghi]perilene (BgP) e dibenzo[a,h]antracene (DBA).

La miscela standard degli analiti per i PCB era rappresentata da BZ # 77 , BZ # 126 , BZ # 169 , BZ # 81 , BZ # 105 , BZ # 114 , # 118 BZ , BZ # 123 , # 156 BZ , BZ # 157BZ# 167, BZ# 189, BZ# 28, BZ# 52, BZ# 95, BZ# 101, BZ# 99, BZ# 110, BZ# 151, BZ# 149, BZ# 146, BZ# 153, BZ# 138, BZ# 187, BZ# 183, BZ# 177, BZ# 180, BZ# 170, BZ# 128, BZ# 44, BZ# 31, BZ#18.

Gli SPMD utilizzati misuravano 91,4 cm di lunghezza, 2,5 cm di larghezza, 70-95 μm di spessore della parete in LDPE, contenevano 1 ml di trioleina pura al 99 %, e i PRC (fenantrene-D10, acenaftene-D10, crisene-D12, D10-fluorene, benzo[e]pirene-d12, $^{13}\text{C}_{12}\text{PCB-1}$, $^{13}\text{C}_{12}\text{PCB-8}$, $^{13}\text{C}_{12}\text{PCB-37}$ e $^{13}\text{C}_{12}\text{PCB-54}$).

I contenitori in acciaio inossidabile o canister sono stati puliti con un detergente, acqua di

rubinetto e acqua bidistillata prima di essere risciacquati con acetone ed esano.

Gli SPMD sono stati trasportati, sino ai siti di campionamento, ad una temperatura di 4°C all'interno di contenitori di metallo sigillati. Prima dell'imbarco i dispositivi sono stati montati su appositi sostegni o spider e inseriti nei canister, ai quali è stata applicata una rete metallica in acciaio inox al fine di prevenire la fotodegradazione degli IPA (Komarova *et al.*, 2009); infine sono stati posti sotto atmosfera di argon.

Raggiunto il sito prescelto il canister è stato posizionato ad una profondità di circa due metri, assicurato ad una boa con una fune in polipropilene e ancorato al fondo con una zavorra di circa 40 kg.

Dopo il recupero, ogni campionatore è stato trasportato in atmosfera inerte e poi smontato, la superficie di ogni SPMD è stata pulita con carta di laboratorio e ogni singolo dispositivo è stato inserito nel contenitore di metallo corrispondente.

Per ogni sito di campionamento sono stati allestiti gli SPMD bianco di trasporto, bianco di fabbrica e quello destinato all'esposizione nella matrice acquosa, come suggerito da Huckins *et al.* (2006).

4.1.3 Risultati

La concentrazione degli IPA è risultata compresa tra 11.1 ± 2.6 e 64.6 ± 11.9 ng g⁻¹.

A La Maddalena il valore massimo è stato riscontrato in LM3(a), dove tutti gli IPA erano a 4–5 anelli, e quello minimo in LM1(b). Valori bassi sono stati rilevati anche all'Asinara, in particolare AS2 ha mostrato una concentrazione pari a 12.4 ± 2.5 ng g⁻¹.

Al fine di calcolare la concentrazione in acqua marina, sono stati presi in considerazione unicamente i risultati che corrispondevano a due volte il valore del rispettivo bianco di trasporto.

In particolare le concentrazioni di Naph, Fl, Phen, e Ant sono risultati quasi sempre inferiori al doppio di quelli contenuti nel bianco di trasporto, l'Aceph è stato rilevato unicamente in AS1 e l'Ace in AS1 e AS2.

Il Flu ha mostrato nella totalità dei siti in un range compreso tra 6.5 ± 0.4 – 16.6 ± 0.6 ng g⁻¹, ma i valori maggiori sono stati riscontrati in LM3(a) e LM2(b).

Le percentuali di ritenzione di Acenaphthene-d10, fluorene-d10 e ¹³C₁₂PCB-1 sono risultate rispettivamente pari a 1.4%, 2.7%, e 8.9% della media del residuo dopo esposizione degli SPMD e dunque quasi completamente dispersi in tutte le stazioni campionamento (Fig. 11)

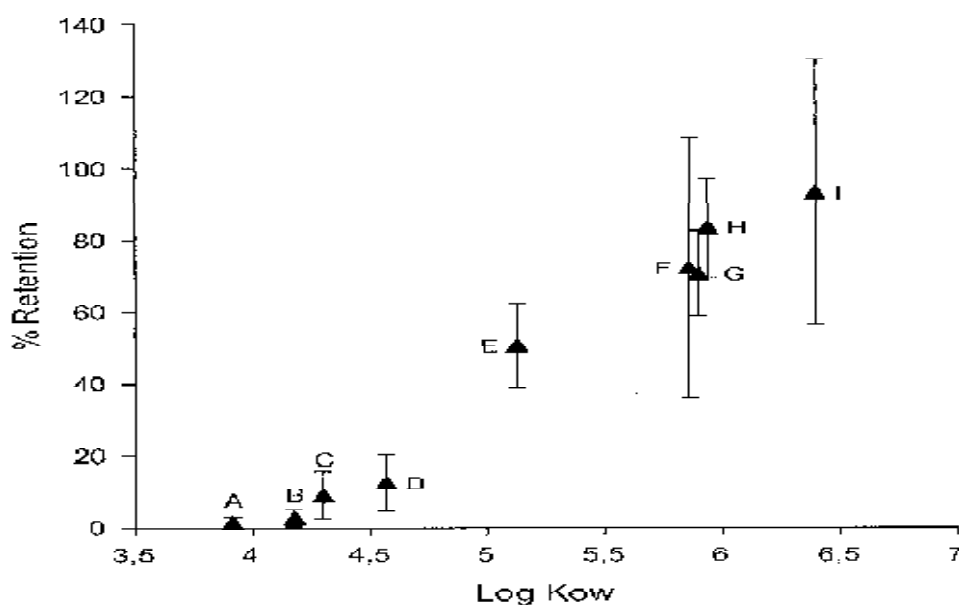


Fig. 11 - Percentuale di ritenzione di PRC in funzione del log K_{OW} + DS.

(A) Acenaphthene-d10; (B) fluorene-d10; (C) ¹³C₁₂-PCB-1; (D) phenanthrene-d10; (E) ¹³C₁₂-PCB8; (F) chrysene-d12; (G) ¹³C₁₂-PCB37; (H) ¹³C₁₂-PCB54; (I) benzo(e)pyrene-d12.

Il residuo di Phenantrene-d10 è stato inferiore al 20% nella maggioranza delle stazioni con una media pari a 12.5%, quello di chrysene-d12 è risultato quasi del 100% in LM1(b) e AS1, inoltre la media dei residui di tutte le stazioni è risultata del 72.3%.

Benzo(e)pyrene-d12 e $^{13}\text{C}_{12}\text{PCB-54}$ in tutte le stazioni non hanno mostrato una apprezzabile dispersione infatti la media dei residui è risultata rispettivamente pari a 93.2% e 83.4%. Anche la dispersione di $^{13}\text{C}_{12}\text{PCB-37}$ è stata bassa, con un range compreso tra 46.1 e 81.1% e una media pari a 70.5%.

Per i calcoli, sono stati utilizzati i residui di $^{13}\text{C}_{12}\text{PCB-8}$ in quanto rientravano nel range 20%–80%, che ha interessato tutte le stazioni, l'intervallo dei valori del residuo è infatti risultato compreso tra 31.2 e 68.6%, con valore medio pari a 50.6%.

Nei siti LM2(a) e LM3(a) sono state rilevate piccole quantità di PCB, tuttavia in LM1(b), AS1, and AS2 tutti gli analiti sono risultati inferiori al limite di rilevamento.

L'intervallo della frequenza di campionamento stimata è risultata compresa tra 2.1 L d⁻¹ (Naftalene in AS1) e 14.4 L d⁻¹ (benzofluorantene in LM1(b)) per gli IPA e tra 1.2 L d⁻¹ (PCB-177 in LM1(b)) e 16.8 L d⁻¹ (PCB-18 in LM2(a)) per i PCB.

I risultati relativi alla stima delle concentrazioni acquose di IPA e PCB sono riportati nelle Tabb. 4 e 5.

Tab. 4 - Concentrazione di IPA in acqua marina (pg L⁻¹)a,b.

	AS1	AS2	LM1b	LM2a	LM2b	LM3a
Naph	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Aceph	322± 38	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Ace	292± 29	174± 66	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Fl	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Phen	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Ant	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Flu	138± 8	113± 11	231±	86± 8	286±	224± 15
Pyr	<LOD	<LOD	<LOD	19± 1	31± 7	87± 4
BaA	<LOD	<LOD	<LOD	20 ± 2	<LOD	115± 6
Chr	<LOD	<LOD	<LOD	35 ± 3	<LOD	114± 10
B(b+k)F	<LOD	28± 14	44± 8	53± 1	64± 4	278± 16
BaP	<LOD	<LOD	<LOD	15± 2	<LOD	64± 0.1
BeP	<LOD	<LOD	34± 9	11± 1	12± 3	89± 5
Per	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	16± 4
Inp	<LOD	<LOD	<LOD	28± 6	<LOD	255± 40
DBA	208± 60	<LOD	99± 54	<LOD	<LOD	80± 16
BgP	<LOD	<LOD	<LOD	5± 1	<LOD	68± 40
∑	961±	315± 71	408±	272± 5	394±	1392± 98
∑ IPA	614± 61	174± 66	-	-	-	-
∑ IPA	347± 61	141± 18	408±	272± 5	394±	1392± 98

a. LOD: limite di rilevamento b.

b. Il campione LM3(b) è andato perduto

Tab. 5 - Concentrazione di PCB in acqua marina (pg L^{-1}) a,b.

	AS1	AS2	LM1b	LM2a	LM2b	LM3a
BZ#18	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
BZ# 31 + 28	<LOD	<LOD	<LOD	2 ± 0.6	<LOD	4 ± 0.4
BZ# 44	<LOD	<LOD	<LOD	3 ± 1	<LOD	9 ± 2
BZ# 58	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	3 ± 1
BZ# 95	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	15 ± 4
BZ# 101	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	18 ± 6
BZ# 99	<LOD	<LOD	<LOD	2 ± 0.6	<LOD	11 ± 3
BZ# 81	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
BZ# 110	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
BZ# 77	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
BZ# 151	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
BZ# 149	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
BZ# 123	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
BZ# 118	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	12 ± 3
BZ# 114	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
BZ# 146	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
BZ# 153	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
BZ# 105	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	3 ± 0.1
BZ# 138	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
BZ# 126	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
BZ# 187	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
BZ# 183	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
BZ# 128	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
BZ# 167	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
BZ# 177	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
BZ# 156	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
BZ# 157	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
BZ# 180	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
BZ# 169	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
BZ# 170	<LOD	<LOD	<LOD	3 ± 0.6	<LOD	7 ± 0.5
BZ# 189	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Σ PCB	-	-	-	9 ± 3	-	65 ± 14

a. LOD: limite di rilevamento

b. Il campione LM3(b) è andato perduto

Le concentrazioni medie per sito di campionamento sono risultate comprese tra 272 ± 5 pg L^{-1} rilevata LM2(a) e 1392 ± 98 pg L^{-1} in LM3(a), con un valore medio di 623 pg L^{-1} , tale valore è risultato superiore nei siti LM3(a) e AS1.

Le concentrazioni dei singoli IPA per sito di campionamento sono riportate nelle figura 12 e nelle figure 13 e 14 le concentrazioni sono state calcolate singolarmente per l'Isola dell'Asinara e l'Arcipelago de La Maddalena.

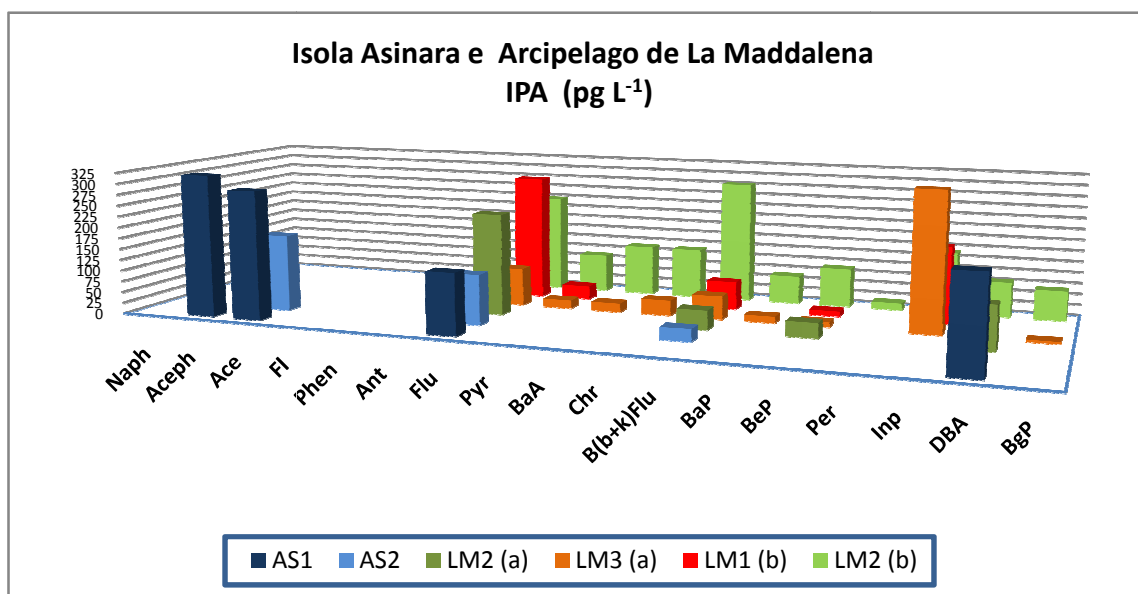


Fig. 12 – Isola dell'Asinara e Arcipelago de La Maddalena, concentrazioni IPA.

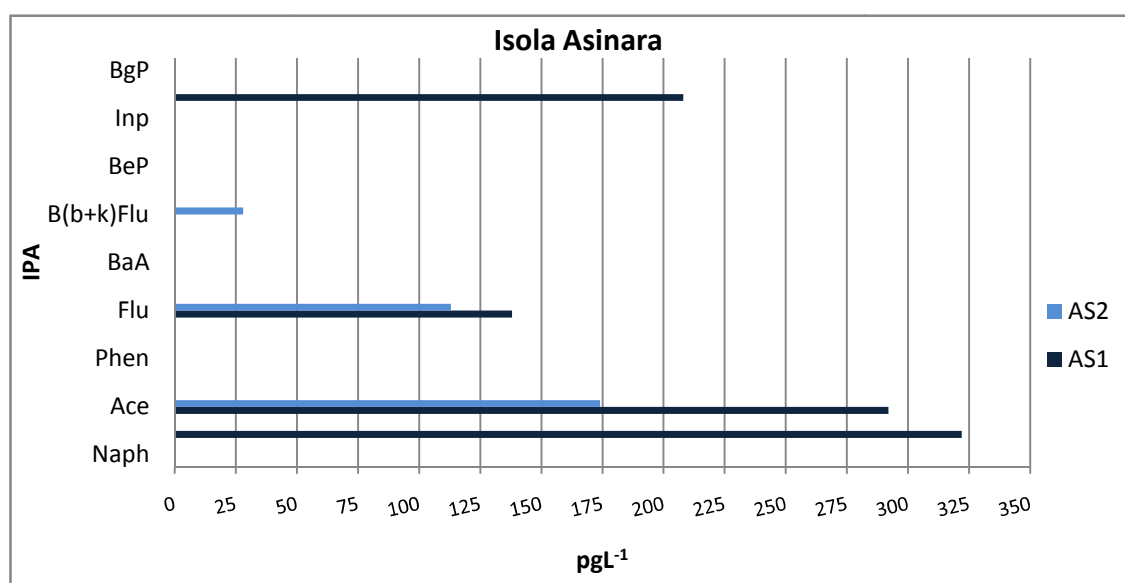


Fig. 13 – Isola dell'Asinara, concentrazioni IPA.

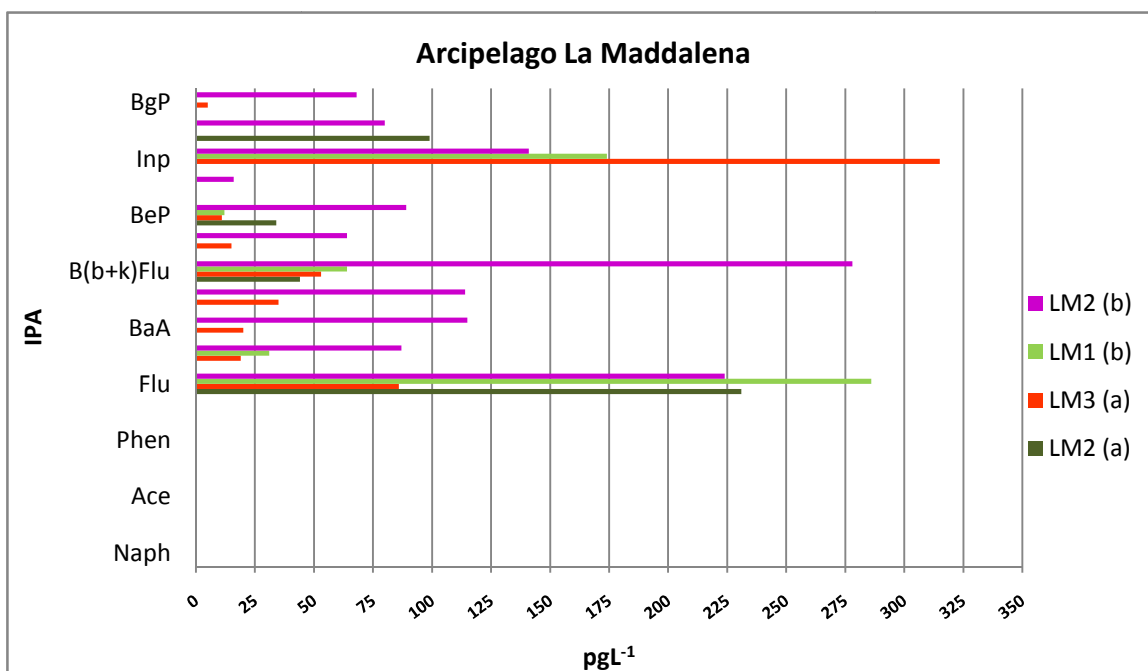


Fig. 14 – Arcipelago de La Maddalena, concentrazioni IPA.

La distribuzione di IPA a basso peso molecolare (IPA Low) e ad alto peso molecolare (IPA Hight) ha mostrato, complessivamente, una maggiore presenza dei secondi (Fig. 15).

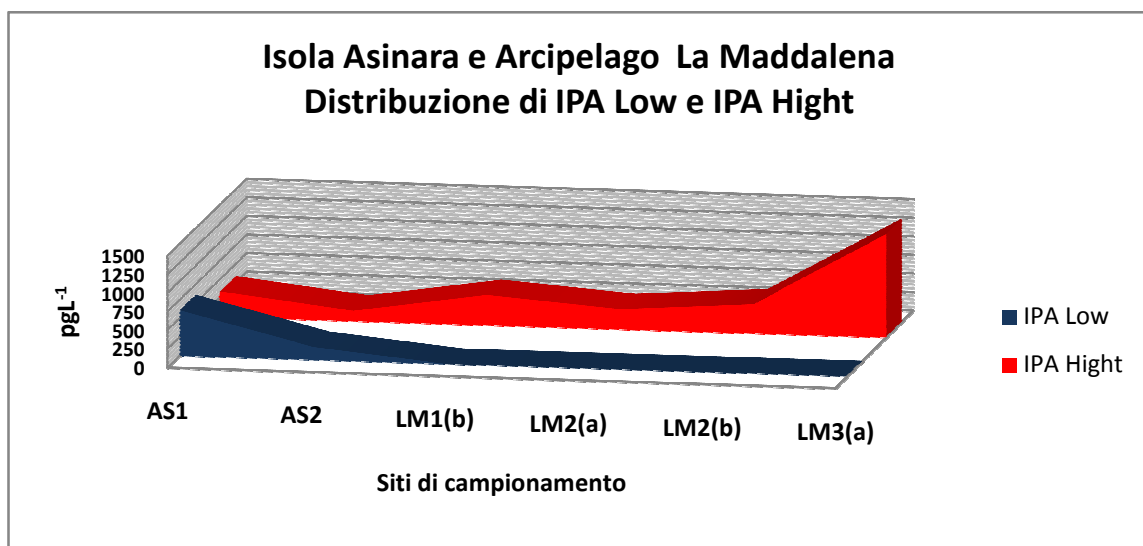


Fig. 15 – Isola Asinara e Arcipelago de La Maddalena, distribuzione IPA Low e IPA Hight.

L'analisi della distribuzione percentuale mostra che gli IPA Low e gli IPA Hight costituiscono rispettivamente il 21% e 79% del totale degli IPA.

In particolare gli IPA a basso peso molecolare sono stati rilevati esclusivamente nei siti di campionamento dell'AMP dell'Asinara in percentuali pari al 78% in AS1 e 22% in AS2 e costituiscono rispettivamente il 63.2% e 55.2%, del totale della concentrazione degli IPA (Fig. 16).

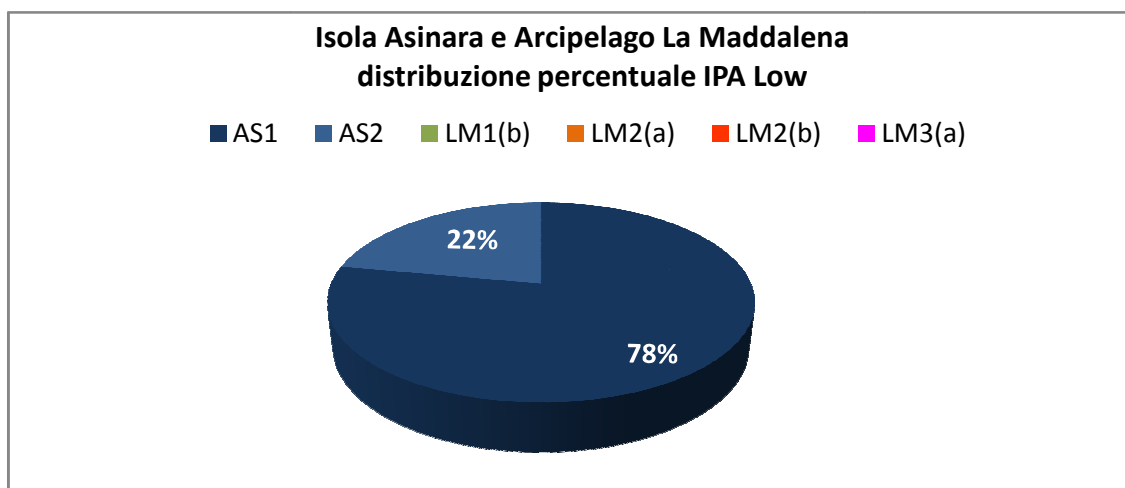


Fig. 16 – Isola Asinara e Arcipelago de La Maddalena, distribuzione percentuale IPA Low.

Per quanto attiene gli IPA Hight la concentrazione minima, pari a 141 ± 18 , è stata rilevata in AS2 e la massima, pari a 1392 ± 98 , in LM3(a).

L'analisi percentuale della sommatoria degli Idrocarburi policiclici Aromatici ad alto peso molecolare ha evidenziato valori maggiori nei siti dell'Arcipelago de La Maddalena e pari al 47% in LM3(a), 14% in LM1(b), 13% in LM2(b) (Fig. 17).

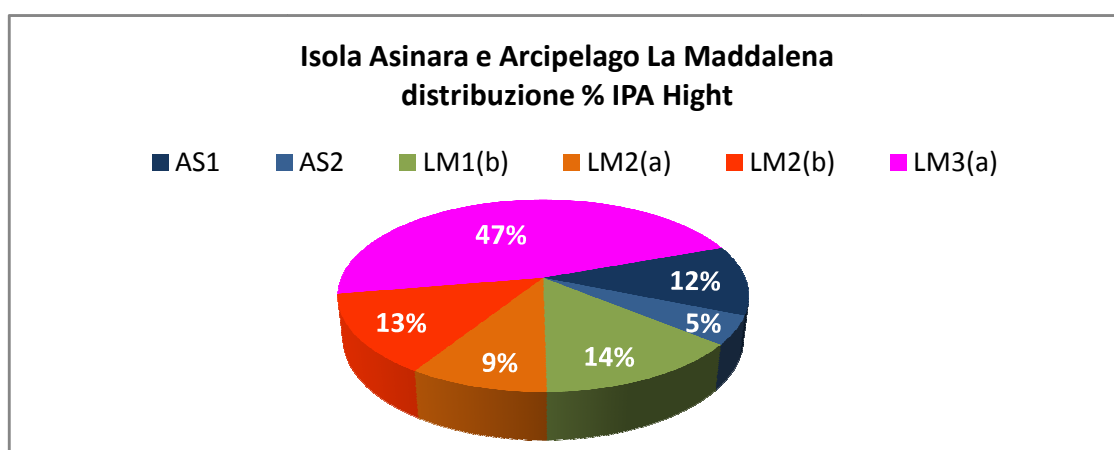


Fig. 17 – Isola Asinara e Arcipelago de La Maddalena, distribuzione di IPA Hight.

Le concentrazioni di PCB sono risultate al di sotto dei limiti di rilevamento ad eccezione

di LM2(a) ed LM3(a).

In particolare la sommatoria delle concentrazioni di PCB è risultata pari $9 \pm 3 \text{ pg L}^{-1}$ in LM2(a) e pari a $65 \pm 14 \text{ pg L}^{-1}$ in LM3(a) (Fig. 18).

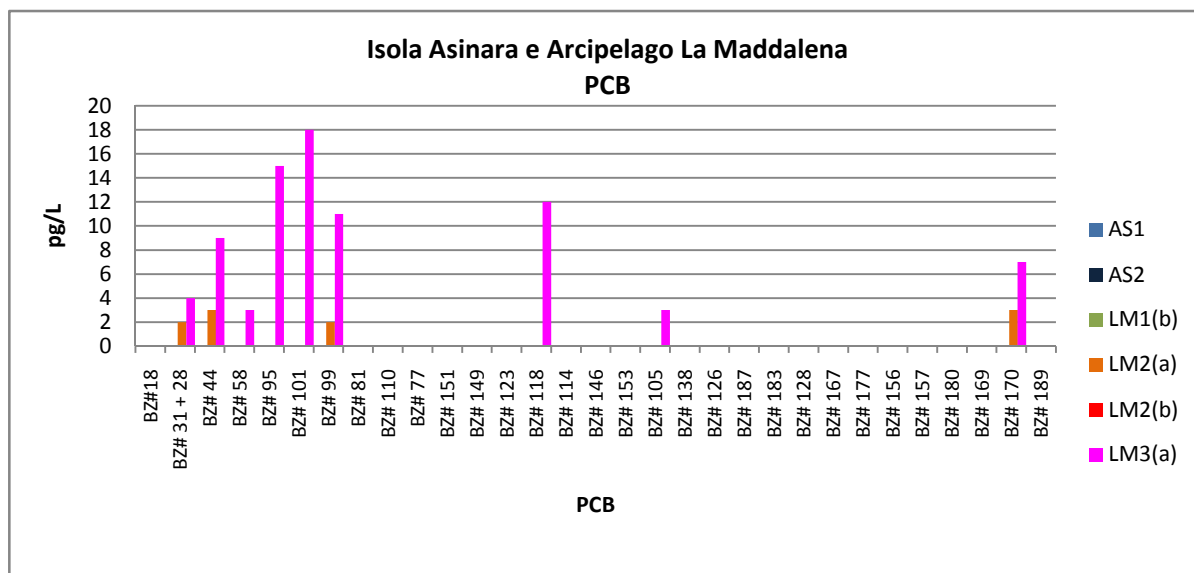


Fig. 18 – Isola Asinara e Arcipelago de La Maddalena, distribuzione di PCB.

4.1.4 Discussione

I risultati hanno evidenziato che tutte le sostanze analizzate sono andate all'equilibrio infatti i valori del coefficiente di ripartizione $\log K_{OW}$ è risultato inferiore a 4.5.

I tassi di campionamento stimati in questo studio sono risultati superiori a quelli ottenuti da Rantalainen *et al.* (2000) e Luellen *et al.* (2002), che hanno calcolato rispettivamente una portata di 8 cm s^{-1} e 50 cm s^{-1} a 25°C , e nettamente inferiori a quelli riportati da Booij *et al.* (2003) che si attestano a 90 cm s^{-1} . Tuttavia il confronto risulta difficile in quanto questo studio è stato condotto in ambiente marino.

Il Flu è risultato presente in tutti i siti con un range compreso tra 14,4% e 72,8% del contenuto totale IPA.

La stazione di campionamento LM3(a) ha mostrato una contaminazione elevata rispetto alle aree circostanti, in particolare i risultati delle analisi dei sedimenti effettuate in questo sito nell'ambito del progetto MOMAR (VV.AA, 2012) ha rivelato concentrazioni di IPA di circa $5000 \mu\text{g kg}^{-1}$, a differenza di quanto emerso nei restanti siti di campionamento nei quali i valori erano generalmente inferiori a $20 \mu\text{g kg}^{-1}$.

Per contro gli IPA nell'Isola dell'Asinara si sono rivelati principalmente a basso peso molecolare (IPA Low) e rappresentavano rispettivamente 63,2% e 55,2% del totale.

Se consideriamo che gli IPA con 2-3 anelli degradano nella colonna d'acqua più velocemente di quelli con 4-5 anelli o IPA pirolitici (Dachs *et al.*, 1997), la contaminazione in AS1 e AS2, caratterizzata da un maggior contenuto di Aceph e Ace, sembra essere di origine recente.

Poiché il $t_{1/2}$ per acenaftilene-d10 in AS1 è risultato pari a sette giorni, la presenza di Ace e Aceph in AS1 e AS2 potrebbe essere correlata ad un evento verificatosi nelle 2 settimane precedenti. Un confronto di questi risultati con quelli di altri autori risulta difficile a causa di un diverso approccio dei calcoli delle concentrazioni acquose (Gustafson e Dickhut 1997; Durell *et al.*, 2006).

Alcuni autori hanno confrontato l'accumulo di IPA negli SPMD e in organismi bivalvi (Peven *et al.*, 1996; Richardson *et al.*, 2003), che il più delle volte sono stati riportati come risultati grafici (Axelmann *et al.*, 1999; Utvik e Johnsen 1999a; Luellen e Shea, 2002; Booij *et al.*, 2006a; Komarova *et al.*, 2009; Allan *et al.*, 2012).

I livelli di Ace e Aceph rilevati in AS1 e AS2 sono risultati superiori a quelli segnalati da Shaw *et al.* (2004) e Harman *et al.* (2009), che ha usato i PCR per correggere le costanti di velocità di ogni campione.

Per gli IPA con peso molecolare $>252 \text{ g mol}^{-1}$, le concentrazioni presenti nel sito LM3(a) sono considerate alte.

Nel Mediterraneo, solo David *et al.* (2010) hanno utilizzato gli SPMD per monitorare le concentrazioni di IPA, anche se il loro studio era mirato al monitoraggio delle acque di transizione.

In particolare gli IPA sono stati misurati tramite campionamento diretto e analisi della matrice acquosa come indicato da El-Nemr e Abd-Allah (2003), Tedetti *et al.* (2010) e Guigue *et al.* (2011) oppure con campionamento ad alto volume con filtrazione ed estrazione in fase solida *in situ* (Lipiatou *et al.*, 1997; Dachs *et al.*, 1997). Pertanto, un confronto con questi risultati risulta difficile.

Poiché tale lavoro è stato effettuato in differenti aree, gli studi eseguiti mediante campionamento istantaneo hanno mostrato valori molto più alti di IPA rispetto a quelli trovati in questa indagine, tuttavia i valori ottenuti nel campionamento ad alto volume (300 L) con l'estrazione *in situ* della resina risultano maggiormente confrontabili ($\sum \text{IPA} < 1 \text{ ngL}^{-1}$).

I valori dei singoli analiti in questo lavoro sono coerenti con le misure effettuate da Lipiatou *et al.* (1997) e Dachs *et al.* (1997).

In generale le pubblicazioni inerenti il tenore di PCB nelle acque marine sono esigue a causa della difficoltà di analisi dovuta alle concentrazioni estremamente basse e alla necessità di distinguere la fase solubile da quella adsorbita alle particelle in sospensione (Tolosa *et al.*, 1997).

Inoltre la confrontabilità dei dati risulta complicata, similmente agli IPA, a causa dell'utilizzo di diversi metodi analitici e del numero di congeneri analizzati (Burns e Villeneuve, 1987).

Le concentrazioni totali dei PCB riportati in questo lavoro sono confrontabili con quelli riportati da Tolosa *et al.* (1997) nel Mare Catalano, che ha rilevato la fase disciolta con campionamento diretto. Come per gli IPA, non si conoscono dati inerenti la concentrazione di PCB effettuati con utilizzo del campionamento passivo nelle acque del Mediterraneo.

Per quanto attiene le acque marine il rilevamento dei PCB con utilizzo di SPMD è stato realizzato nel Mare del Nord (Granmo *et al.*, 2000), nel Mar Baltico (Sundberg *et al.*, 2005) e nel porto di Sydney (Roach *et al.*, 2009). Le concentrazioni di PCB riportate nel nostro lavoro sono confrontabili con i valori più bassi riscontrati da questi autori in ambienti relativamente incontaminati.

4.1.5 Conclusioni

L'uso degli SPMD ha permesso di rilevare concentrazioni molto basse di IPA disciolti (pg L^{-1}) in acqua di mare. I risultati mostrano evidenti differenze tra i singoli IPA riscontrati nelle due aree di campionamento, fornendo informazioni sulle fonti di inquinamento.

I PCB sono risultati generalmente inferiori al limite inferiore di rilevamento del metodo adottato in questa indagine.

I nostri risultati hanno mostrato che i livelli di questi inquinanti sono inferiori ai limiti stabiliti dalle Direttive 2008/105/CE e 2013/39/CE (All. 1).

Tuttavia, è necessario specificare che questi risultati si riferiscono all'analisi di campioni di acqua di quantità discrete e che il campionamento passivo fornisce esclusivamente dati relativi alla concentrazione della frazione disciolta.

CAPITOLO 5

Sperimentazione di Diffusive Gradients in Thin Films (DGT) nelle acque di transizione della Sardegna meridionale

5.1 Laguna di Santa Gilla

5.1.1 Introduzione

La laguna di Santa Gilla, compresa nell'area umida costiera più estesa della Sardegna denominata Stagno di Cagliari (6000 ha), ha con una estensione di circa 1200 ha, è situata ad Ovest-Nord-Ovest di Cagliari, si estende per circa 10 km verso l'entroterra e presenta una profondità media di 0.60 m nel settore settentrionale, di 1.0 m in quello centrale e di circa 2.0 m nel canale navigabile che costeggia la sponda orientale.

E' alimentata a monte dalle acque dolci del Rio Cixerri e del Flumini Mannu e riceve a valle le acque salate dal canale de La Scafa di 150 m di larghezza e circa 3 m di profondità.

Lo scambio di acqua con il mare nel bacino meridionale risulta più veloce e pari a 2-3 giorni, rispetto a quello più interno che dura circa 8-12 giorni (Degetto *et al.*, 1997). I due affluenti principali hanno una portata di $12 \text{ m}^3\text{s}^{-1}$, con un massimo di $30 \text{ m}^3\text{s}^{-1}$ in inverno

Il Rio Cixerri origina dal Sulcis Iglesiente e si immette nella laguna dopo aver attraversato territori oggetto di attività estrattive che hanno avuto una influenza significativa sulla qualità e quantità delle risorse acquifere del territorio circostante, con particolare riferimento a Piombo, Zinco e Cadmio e Nichel (Cidu, 2009).

Nel territorio Comunale di Assemini è inoltre presente la Laveria Silius, impianto di trattamento mineralurgico (Fluoro, Piombo, Zinco, Argento e Bario) del giacimento di fluorite e galena "Genna Tres Montis" sito in territorio dei comuni di Silius e San Basilio, attiva dal 1953 al 2002 (<http://www.fluoritedisilius.it>).

Nel corso dell'ultimo secolo l'area umida è stata oggetto di importanti modificazioni ambientali: opere di bonifica del Rio Cixerri e Rio Flumini Mannu (1904), bonifica e realizzazione delle saline Contivecchi negli anni '20, realizzazione del polo industriale di Macchiareddu negli anni '60 e costruzione del Porto Canale negli anni '70.

Nell'ultimo decennio il porto di Cagliari, considerato uno dei grandi porti di transhipment nel Mezzogiorno (Siviero, 2002), gestisce un traffico di grosse imbarcazioni e petroliere stimato in 26 milioni di tonnellate/annue circa di prodotti chimici e petroliferi.

Dal 1974 al 1994 è stato applicato il divieto di pesca nella laguna a causa di un grave inquinamento di natura industriale, urbana e agricola. In particolare dalla metà degli anni '60 a metà degli anni '80 le acque lagunari sono state oggetto di immissione di scarichi industriali di composti di mercurio, piombo e zinco, di acque reflue urbane non trattate e di acque di dilavamento provenienti da terreni agricoli, in conseguenza del quale la laguna è stata sottoposta a intervento di bonifica. In particolare in tale periodo si è stimato che siano stati immessi in laguna circa 26 t di Hg provenienti dall'impianto di cloro-alcali, perlopiù confinati in un'area di circa 2 km² di fronte all'area industriale sul versante occidentale della laguna (Degetto *et al.*, 1997).

Secondo i dati resi noti dalla VI^a Commissione d'Indagine sullo stato e sulle prospettive produttive delle acque salmastre (C.R.S., 1981), la produzione ittica media, valutabile in circa 17.000 q/anno nel periodo precedente il 1921, si ridusse a soli 3.000 q/anno tra il 1925 e la fine degli anni '50, per diminuire ulteriormente in seguito e arrivare, nei primi anni '70, a soli 2.122.8 q/anno. Successivamente, tra il 1980 e 1984, la resa media annuale è risultata di 60 kg/ha/anno (Rossi *et al.*, 1992). Attualmente considerando sia i concessionari delle cooperative che gli abusivi, la resa annuale media si attesta intorno a 45 kg/Ha/anno.

L'attività di pesca rappresenta una importante risorsa per la popolazione locale con particolare riferimento alla pesca vagantiva e ai long-lines che forniscono specie ittiche, carcinologiche e malacologiche di pregio, in particolare la laguna accoglie di uno dei più importanti banchi naturali di vongola verace *Ruditapes decussatus* (Linnaeus, 1758) della Sardegna.

L'area umida, a cui la laguna appartiene, riveste una notevole valenza ambientale essendo Riserva Naturale ai sensi della ex L.R. 31/1989, sito Ramsar ai sensi del D.M. 01/08/77, Z.P.S. ai sensi della Direttiva Uccelli 79/409/CEE (L. 157 11/02/1992) e S.I.C. ai sensi della Direttiva Habitat 92/43/CEE (D.P.R. 357 del 8/09/1997 e D.P.R. 120 del 12/03/2003).

Le informazioni riguardo l'inquinamento da metalli pesanti nei nostri mari sono piuttosto limitate, alcuni autori (Schintu *et al.*, 1999; De Luca *et al.*, 2004; Piana *et al.*, 2006; Lafabrie *et al.*, 2007; Schintu *et al.*, 2009, 2010; Cherchi *et al.*, 2009) hanno calcolato la concentrazione di diversi elementi nei sedimenti e nella colonna d'acqua in zone considerate critiche e in particolare Portoscuso, Portovesme e Porto Torres, soggette a precise sorgenti inquinanti di origine industriale.

L'accumulo di metalli è stato valutato in alcuni organismi quali *Mytilus galloprovincialis*, *Posidonia oceanica* e foraminiferi bentonici utilizzati come bioindicatori (Lafabrie *et al.*, 2007, 2008; Schintu *et al.*, 2008; Cherchi *et al.*, 2009; Frontalini *et al.*, 2009, Buosi *et al.*, 2010).

5.1.2 Materiali e metodi

I DGT sono stati posizionati in n. 5 siti di campionamento P1, P2, P3, P7 e P8 a circa 1 m di profondità, per mezzo di un corpo morto e di una boa e sono stati assicurati con un filo di nylon alla sagola di collegamento. Il tempo di deposizione è variato da 3 a 7 giorni.

Le campagne di campionamento sono state effettuate nel novembre 2010, aprile e luglio 2011. (Fig. 19, Tab. 7).

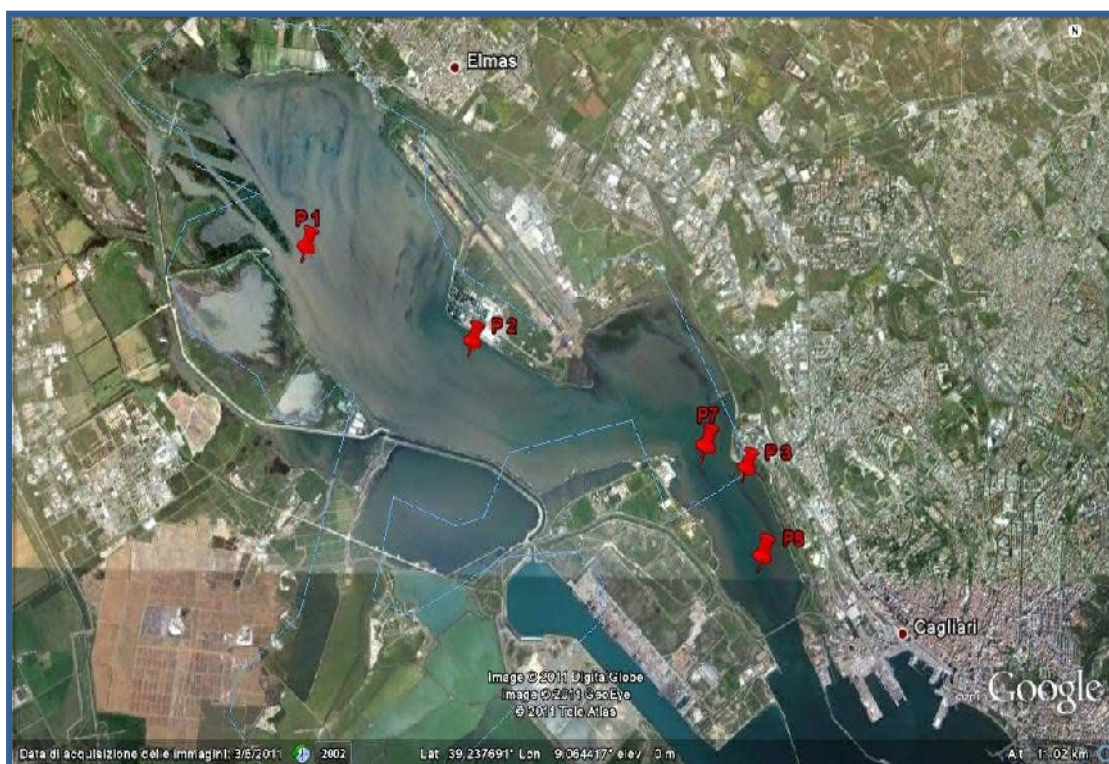


Fig. 19 – Sardegna meridionale, Laguna di Santa Gilla siti di campionamento.

Tab. 7 – Siti di campionamento e tempi di esposizione dei campionatori passivi (DGT).

	Sito	Lat	Lon	Mesi di campionamento	Tempo (gg)
Punta Manna	P1	39.150188	9.014030	novembre 2010 aprile 2011	3 7
Aeroporto militare	P2	39.143208	9.030917	novembre 2010 aprile 2011	3 7
Porticciolo Coop. Santa Igia	P3	39.134615	9.051832	novembre 2010 aprile 2011	3 7
Lavoriero	P7	39.135718	9.045893	luglio 2011	7
Long-Lines Consorzio Ittico	P8	39.131980	9.052666	luglio 2011	7

Per cadmio, cromo, nickel, piombo e rame sono stati usati DGT con resina tipo Chelex 100, gel di diffusione in poliacrilammide con pori di diametro >5 nm e spessore di 0,78 mm.

Per il mercurio sono stati usati DGT con resina tipo Spheron-Thiol e gel diffusivo Agarose con spessore di 0,76 mm.

La temperatura è stata misurata al momento del posizionamento, ad intervalli regolari durante il periodo di esposizione e al momento del recupero dei DGT.

In ogni stazione di campionamento i DGT sono stati assemblati su un supporto in PVC.

In particolare sono stati utilizzati tre dispositivi per il mercurio tre dispositivi per i restanti metalli (Figg. 20, 21).



Figg. 20, 21 - Diffusive Gradients in Thin Film (DGT) su supporto in PVC

Al termine del periodo di esposizione i DGT sono stati recuperati, sciacquati con acqua MilliQ e posti singolarmente in contenitori di plastica.

In laboratorio le capsule in plastica sono state aperte e la resina è stata immersa per almeno 24 ore in 1 ml di acido nitrico 1M; la soluzione così ottenuta è stata successivamente analizzata mediante GFAAS (Varian AA240Z) per il rilevamento di Pb, Cd, Ni, Cu e Cr.

Per il la massa M accumulata nella resina Spheron-Thiol è stata determinata direttamente con uno spettrometro ad assorbimento atomico Direct Mercury Analyzer (DMA 80 Milestone) basato sulla combustione del campione in atmosfera di ossigeno e preconcentrazione in amalgama.

5.1.3 Risultati

Le concentrazioni degli ioni Nichel disciolti nelle acque lagunari sono risultate comprese tra 250,39 e 860,51 ngL^{-1} rilevate rispettivamente nel sito PT8 nel corso della campagna del mese di luglio 2011 e nel sito PT1 nell'aprile 2011. Nel novembre 2010 il valore massimo è risultato pari a 638 ngL^{-1} .

Il range di concentrazione del Cadmio ha mostrato un valore minimo pari 4,55 ngL^{-1} e massimo pari a 18,34 ngL^{-1} , riscontrati in PT2 rispettivamente nel novembre 2010 e aprile 2011.

Per quanto riguarda la frazione biodisponibile degli ioni Piombo è risultata variare da 8,54 rilevata in PT1 (aprile 2011) e 90,52 ngL^{-1} nel sito PT3 (novembre 2010) e quelle degli ioni Cromo tra un valore minimo di 216,06 ngL^{-1} in PT7 (aprile 2011) e un valore massimo di 433,89 ngL^{-1} riscontrata in PT2 (aprile 2011).

Dopo il Nichel, le concentrazioni degli ioni Rame sono risultate alte rispetto alle altre specie metalliche e comprese tra 232,00 ngL^{-1} in PT8 e 520,72 ngL^{-1} in PT2 rilevati rispettivamente in aprile e luglio 2011.

Infine la concentrazione degli ioni Mercurio disciolti è risultata compresa tra 5,38 e 10,59 ngL^{-1} in aprile 2011 e novembre 2010 nella stazione PT3 (Fig. 22, 23, 24).

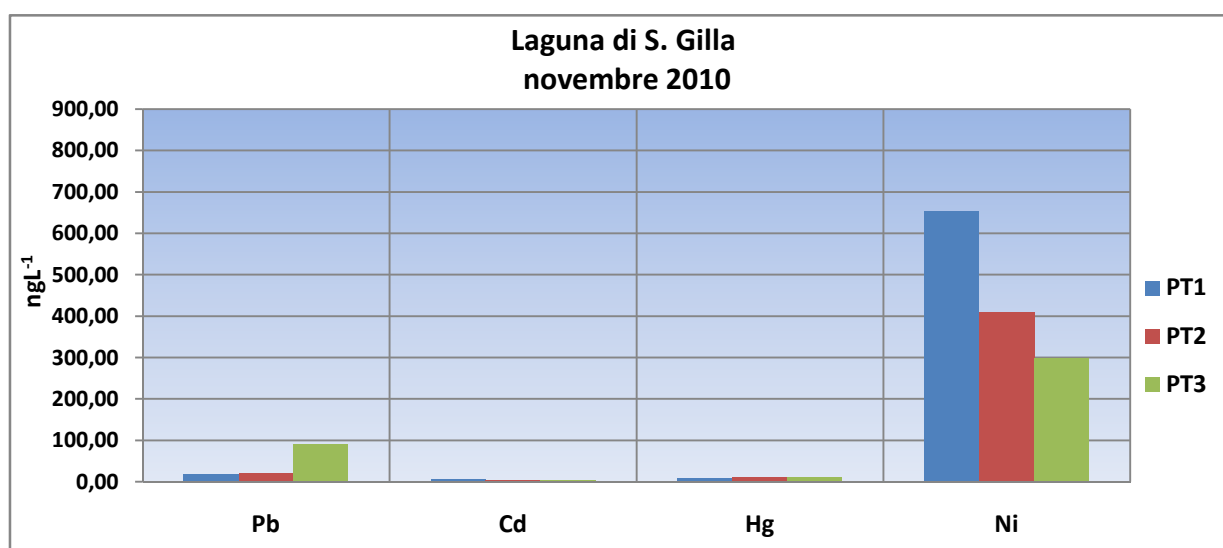


Fig. 22 – Laguna di Santa Gilla, concentrazione metalli campagna novembre 2010.

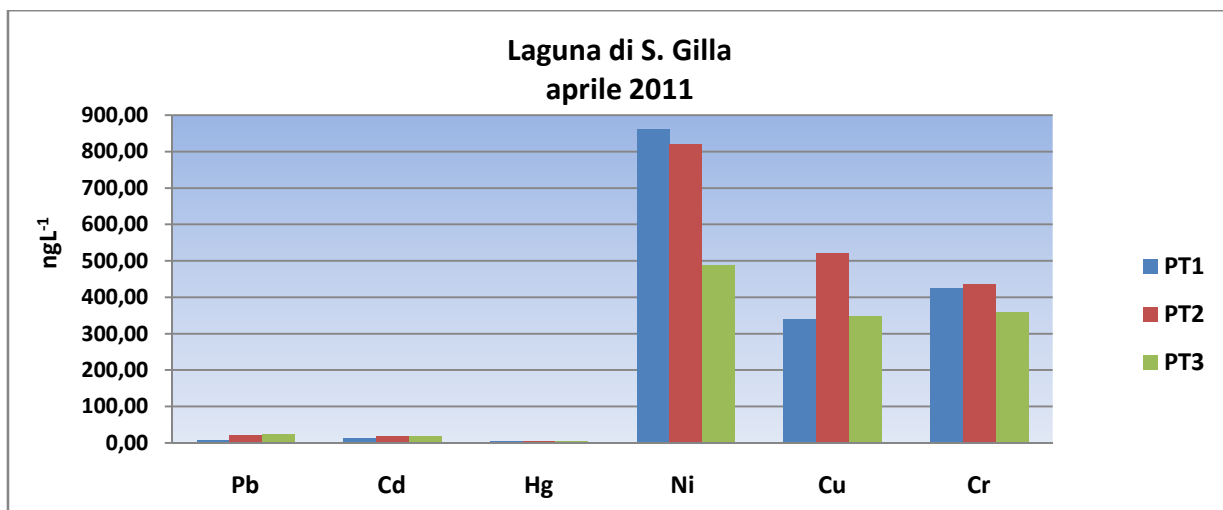


Fig. 23 - Laguna di Santa Gilla, concentrazione metalli campagna aprile 2011.

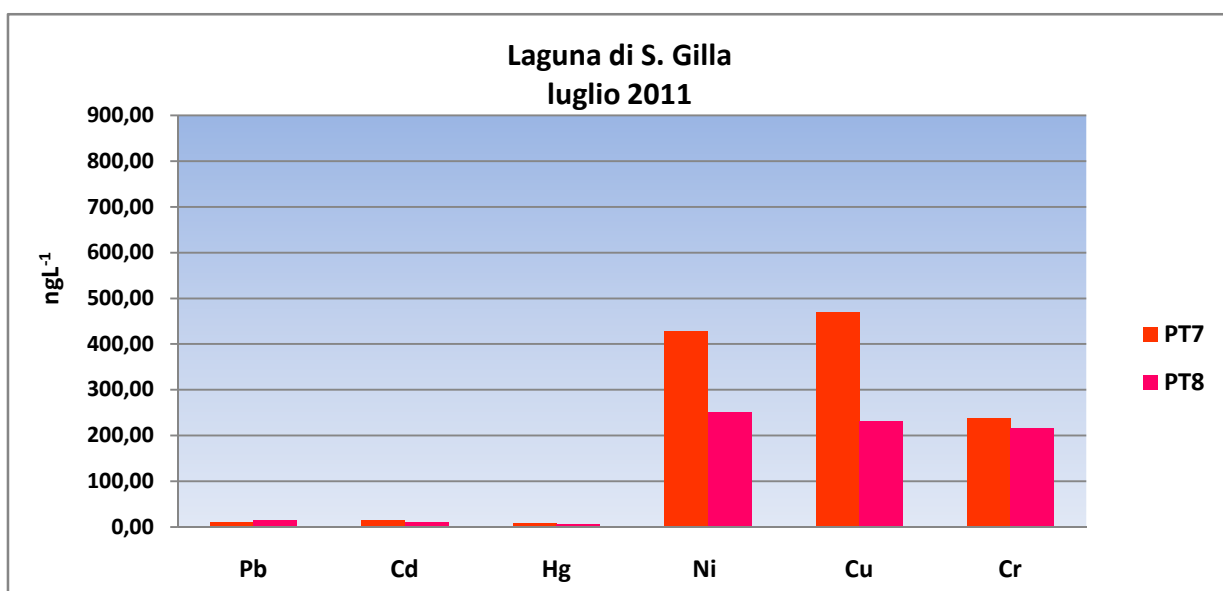


Fig. 24 - Laguna di Santa Gilla, concentrazione metalli campagna luglio 2011.

La rappresentazione grafica per singolo metallo ha evidenziato, nelle tre campagne di campionamento, un particolare andamento in direzione Nord-Sud per il Nichel e, seppure in minor misura, per il Mercurio e Cromo.

Cadmio e Piombo hanno mostrato valori medi $< 20 \text{ ngL}^{-1}$ ad eccezione del sito PT3 in cui il Piombo ha raggiunto il valore di 90 ngL^{-1} .

Infine il Rame ha superato la concentrazione di 400 ngL^{-1} nei siti PT2 e PT7.

Complessivamente le concentrazioni degli ioni metallo monitorati sono risultati decrescere nel seguente ordine Ni>Cu>Cr>Pb>Cd>Hg (Figg. 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31).

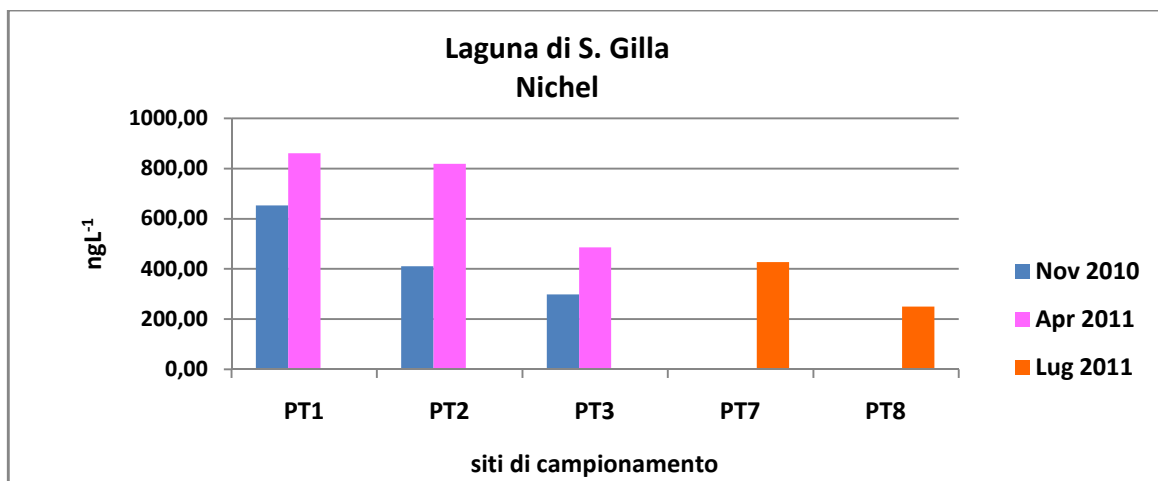


Fig. 25 – Laguna di S. Gilla, concentrazioni di Ni novembre 2010, aprile 2011, luglio 2011.

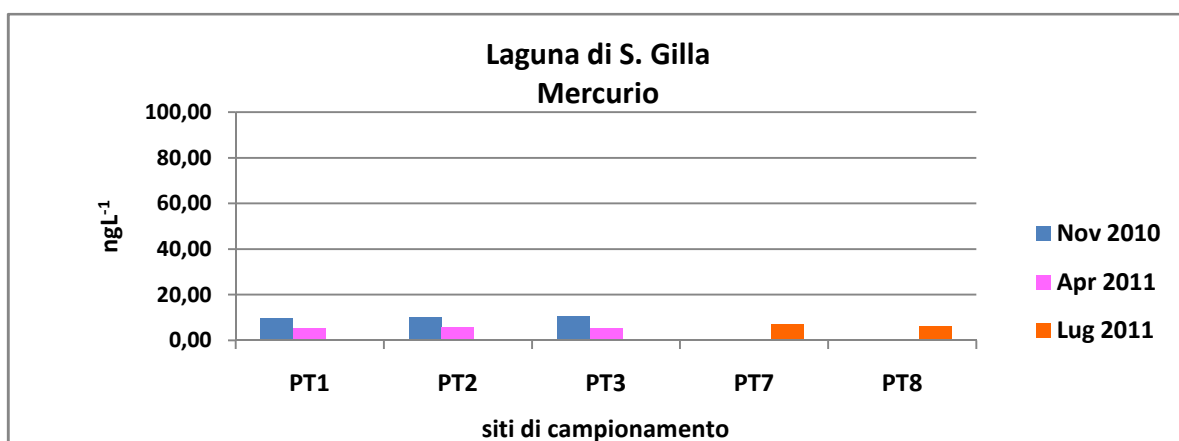


Fig. 26 - Laguna di S. Gilla, concentrazioni di Hg novembre 2010, aprile 2011, luglio 2011.

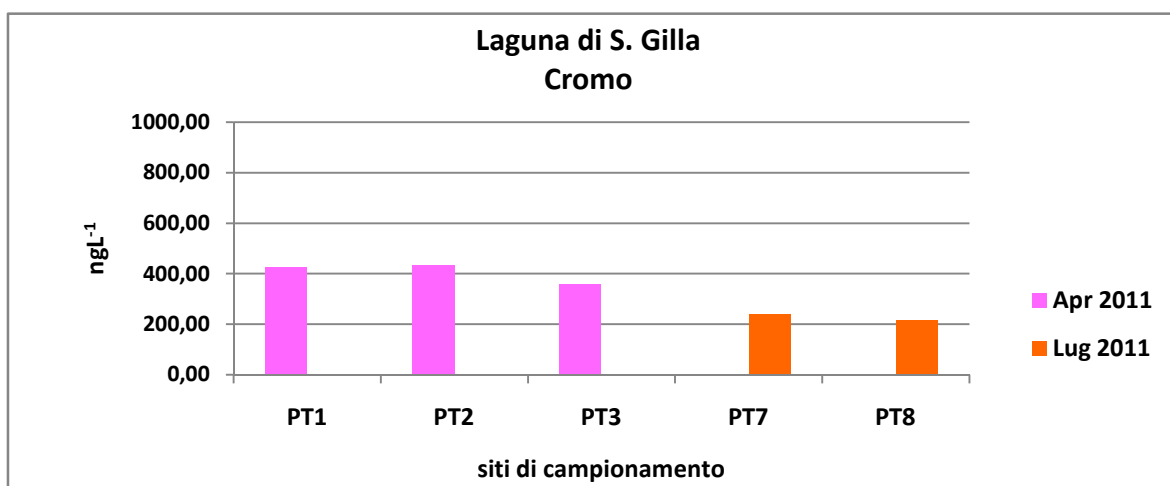


Fig. 27 - Laguna di S. Gilla, concentrazioni di Cr aprile 2011, luglio 2011.

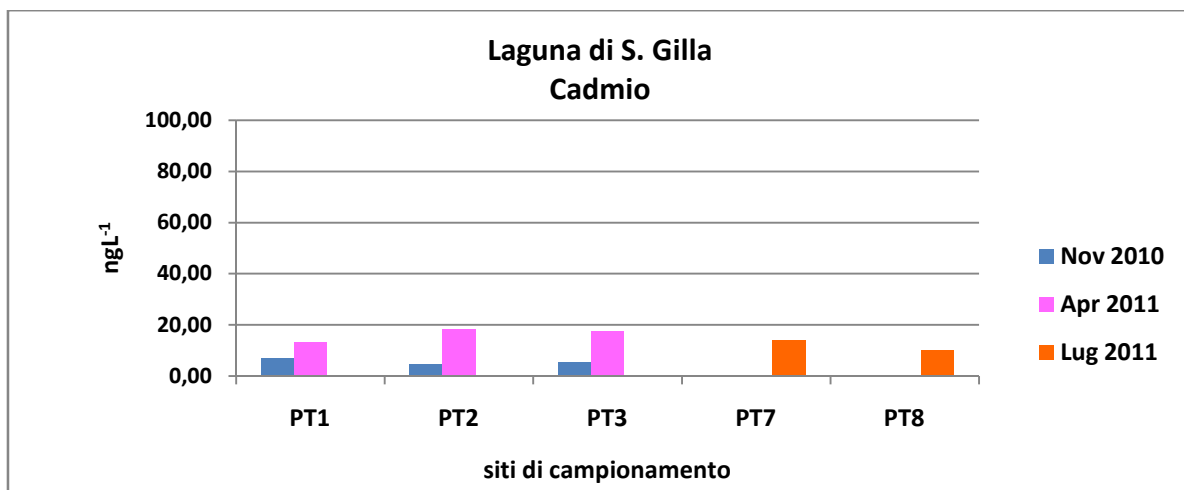


Fig. 28 - Laguna di S. Gilla, concentrazioni di Cd novembre 2010, aprile 2011, luglio 2011.

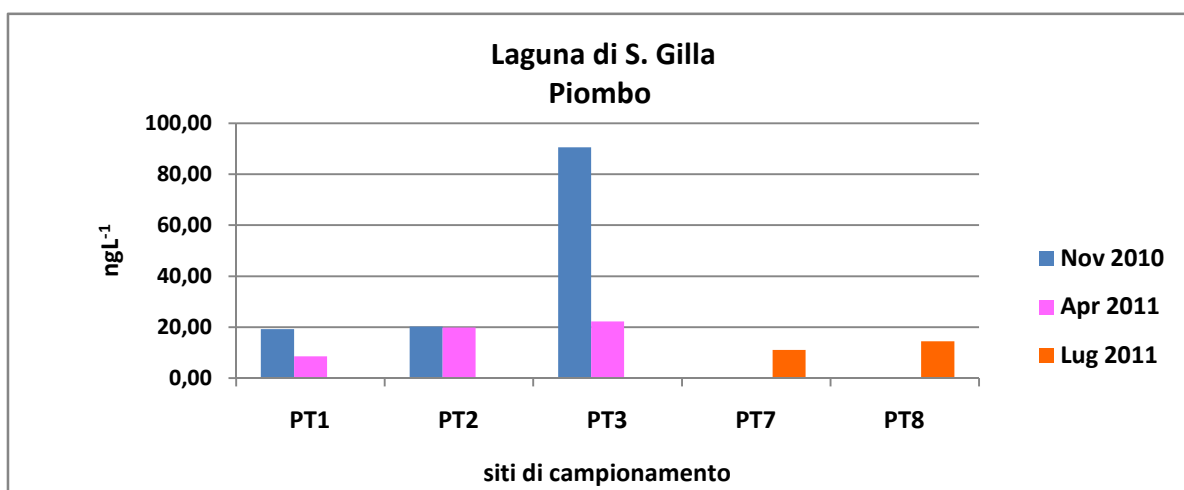


Fig. 29 - Laguna di S. Gilla, concentrazioni di Pb novembre 2010, aprile 2011, luglio 2011.

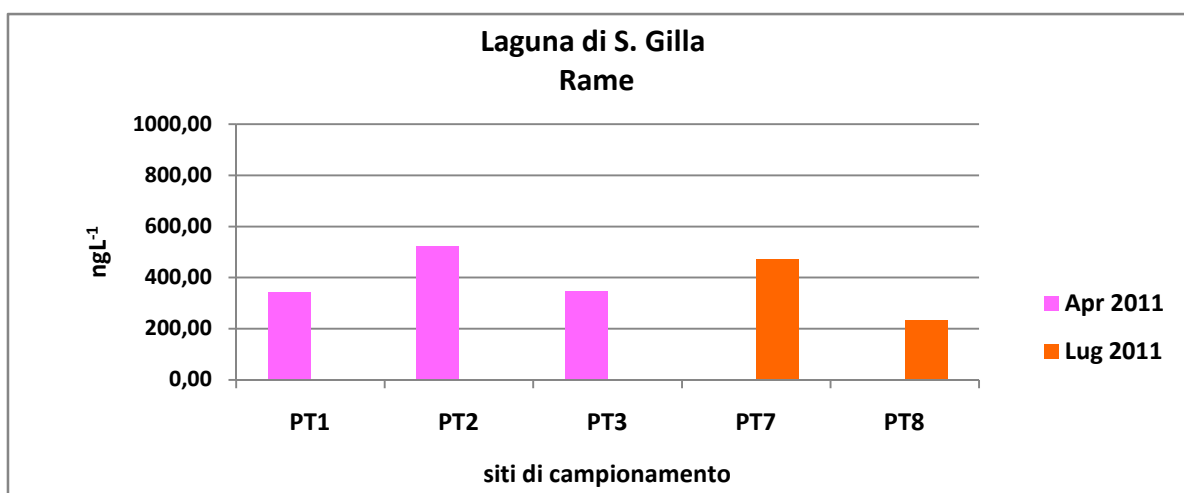


Fig. 30 - Laguna di S. Gilla, concentrazioni di Cu aprile 2011, luglio 2011.

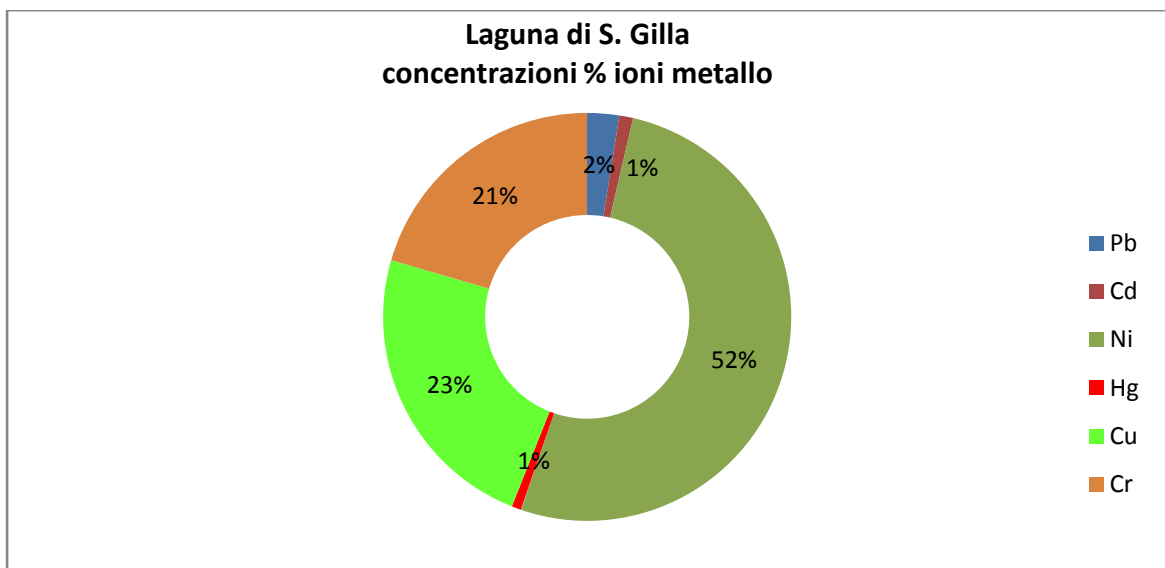


Fig. 31 - Laguna di S. Gilla, concentrazioni totali % degli ioni metallo rilevate nelle tre campagne di monitoraggio novembre 2010 - aprile 2011 - luglio 2011.

5.1.4 Discussione

I risultati hanno evidenziato che la frazione disciolta dei metalli in traccia è stata inferiore rispetto ai limiti previsti per gli SQA ai sensi delle Direttive 2008/105/CE e 2013/39/CE per tutti i metalli monitorati.

In particolare le concentrazioni della frazione biodisponibile di Cadmio, Nichel e Piombo sono risultati inferiori ai limiti di legge ai sensi della Direttiva 2013/39/CE.

Tuttavia il valore massimo di Piombo riscontrato in PT3 e pari a 90.52 ng L^{-1} è presumibilmente dovuto ad un evento spot, tenuto conto del fatto che la stazione di campionamento PT3 è situata in prossimità del canale navigabile che costeggia il versante orientale della laguna.

Il valore massimo della concentrazione di Mercurio è stata di 10.59 ng L^{-1} pari a $0.01 \text{ }\mu\text{L}^{-1}$, corrispondente al valore medio annuo (MA) ai sensi del D.M. 260/2010 e nettamente inferiore alla concentrazione massima ammissibile (CMA) per gli SQA ai sensi della Direttiva 2013/39/CE e pari a $0.07 \text{ }\mu\text{L}^{-1}$.

Le concentrazioni di Cromo sono risultate inferiori agli SQA relativamente al valore medio annuo (MA) pari a $4.0 \text{ }\mu\text{L}^{-1}$.

Per quanto riguarda il Rame, il D.Lgs. 152/2006 considera questo elemento paramento aggiuntivo oggetto di monitoraggio per le acque superficiali ma non vengono forniti valori di riferimento. Technical Committee for New and Existing Substances (TCNES) e Scientific Committee on Health and Environmental Risk (SCHER), entrambi della Commissione Europea, hanno svolto la valutazione finale sulla caratterizzazione dei rischi per l'ambiente e la salute umana e hanno approvato nel 2008 il dossier sulla valutazione del rischio. In particolare viene stabilito che, per l'Europa, il livello di sicurezza per la presenza del rame nelle acque marine sia di $2.6 \text{ }\mu\text{g/L}$ (Loconsolo *et al.*, 2012). I risultati delle analisi relative alla frazione biodisponibile di Rame è risultata compresa tra 232,00 e 520,73 ng L^{-1} pari a $0.23\text{-}0.52 \text{ }\mu\text{gL}^{-1}$ (All. 2).

Studi condotti da Webb *et al.* (2002), in un'area portuale di Melbourne (Australia), hanno rilevato concentrazioni di Cd più elevate ($15\text{-}80 \text{ ngL}^{-1}$) e di Pb dello stesso ordine di grandezza ($10\text{-}50 \text{ ngL}^{-1}$) rispetto a quelle emerse in questa indagine.

Dunn *et al.* (2007) in un'area estuariare dell'Australia nord-orientale, hanno rilevato concentrazioni massime di Nichel ($0.08 \text{ }\mu\text{gL}^{-1}$), Piombo ($0.05 \text{ }\mu\text{gL}^{-1}$) e Rame ($0.28 \text{ }\mu\text{gL}^{-1}$) inferiori rispetto al valore da noi rilevato nelle acque lagunari.

Per quanto riguarda la fascia costiera Lafabrie *et al.* (2007) hanno rilevato valori paragonabili a quelli riportati in questo studio per Cd e Pb, rispettivamente compresi tra 6.0 e

16.0 ngL⁻¹ tra 38.0 e 75.0 ngL⁻¹, in tre siti del Mediterraneo centro-occidentale situati in prossimità di aree caratterizzate da attività antropiche.

Studi effettuati da Schintu *et al.* (2008) in 4 siti della fascia marino-costiera della Sardegna hanno evidenziato concentrazioni analoghe a quelle riportate in questo studio ad eccezione di Cd (2-37 ngL⁻¹), Pb (10-150 ngL⁻¹) e Cu (5-80 ngL⁻¹).

In una laguna della Francia sud-orientale (Fouillard *et al.*, 2012), sono state registrate concentrazioni simili a quelle riportate in questa indagine esclusivamente per Cd (range 12,0-20,7 ngL⁻¹) e per Ni limitatamente al valore minimo pari a 275,0 ngL⁻¹ mentre il valore massimo pari a 467,6 ngL⁻¹ risulta circa la metà di quello riportato in questo studio.

Lafabrie *et al.* (2013) in uno studio inerente l'impatto della sospensione dei sedimenti sul fitoplancton in una laguna della Corsica nord-orientale ha rilevato nell'elutriato valori di Cromo, Mercurio, Nichel, Rame, e Piombo nettamente superiori a quanto riportato in questo studio, ad eccezione del Cadmio che è risultato inferiore al limite di rilevamento.

5.1.5 Conclusioni

L'uso dei DGT ha permesso di effettuare una stima delle concentrazioni della frazione biodisponibile degli ioni metallo individuati nelle acque di transizione di una laguna mediterranea.

I valori rilevati nella laguna di S. Gilla si sono attestati al di sotto dei limiti di legge, nonostante la natura del corpo di fondo e le conseguenze protrattesi nel tempo di fenomeni di inquinamento attribuibili ad attività mineraria e industriale e a scarichi urbani.

In particolare l'area lagunare è stata oggetto di un intervento di ristrutturazione ambientale eseguita dalla R.A.S., per la riduzione sostanziale del contenuto di mercurio, ultimato nel 1991.

Numerose indagini, sono state condotte contestualmente alle operazioni di dragaggio dal C.N.R. di Padova nella cui relazione finale inerente le ricerche svolte nell'ambito della convenzione approvata dalla Corte dei Conti in data 11/02/1986 dello stagno di S. Gilla (rif. n°3 C.N.R.), è contenuta una indicazione di massima relativa ai livelli di fondo naturali dei metalli pesanti rilevati nei sedimenti depositati nella laguna in epoca pre-industriale e identificati sulla base dei dati radio cronologici. In tale relazione i valori di concentrazione del fondo naturale dell'area lagunare sarda, per i metalli Pb e Zn risultano naturalmente superiori.

Tuttavia test di lisciviazione sui sedimenti superficiali (livello 0-20 cm), condotti al fine di valutare la potenziale disponibilità nell'ambiente acquatico dei metalli totali hanno mostrato un rischio di diffusione dei contaminanti dal sedimento alla matrice acquosa di bassa entità, a dimostrazione della elevata stabilità del sistema per quanto attiene la disponibilità dei metalli pesanti (ARPAS, 2007).

Le concentrazioni di Nichel, risultate alte rispetto ad altre aree marine citate, sono probabilmente attribuibili alla composizione litologica dei suoli attraversati dagli immissari Flumini Mannu e Rio Cixerri, che ricevono le acque di dilavamento dei terreni agricoli e delle aree minerarie dismesse. Si tenga conto infatti che lo sfioratore, avendo subito ingenti lesioni nella struttura, si è rivelato inefficace per la regimentazione dei deflussi. Di conseguenza i reflui, portati dal Flumini Mannu e dal Rio Cixerri, si versano in parte nella laguna.

Si precisa inoltre che parte dei deflussi provengono dalle acque di dilavamento dei terreni interessati dalle discariche di fanghi della "Mineraria Silius", ubicate presso l'omonimo impianto e quella della "Fluorsit", poco distante dalla vecchia discarica comunale di Assemini.

CAPITOLO 6

Conclusioni

I risultati inerenti le AMP Arcipelago de La Maddalena e Isola dell'Asinara, hanno evidenziato che in tutti i campioni LM sono stati rilevati esclusivamente IPA ad alto peso molecolare, pertanto, il profilo degli IPA nelle acque costiere dell'Arcipelago de La Maddalena è tipico di Idrocarburi Policiclici Aromatici di origine pirolitica (derivati da incenerimento rifiuti solidi urbani, impianti di cokefazione del carbone e impianti termoelettrici).

Gli IPA in AS sono principalmente IPA a basso peso molecolare e pertanto di sembrerebbero di origine petrogenica (derivati da carbone e petrolio greggio) e probabilmente da ricondursi ad una maggiore esposizione alle attività diportistiche, che nei mesi estivi e successivamente seguenti (ottobre) hanno la massima incidenza.

Inoltre in tutti i siti di campionamento i PCB sono risultati in gran parte inferiori al limite di rilevamento e, dove presenti, erano presenti in quantità minime.

Per quanto riguarda la laguna di S.Gilla le concentrazioni dei metalli, rilevate con l'utilizzo di DGT, sono risultate inferiori ai limiti previsti dalla legge vigente.

L'applicazione costante del campionamento passivo con Diffusive Gradients in Thin Films in ambiente marino-costiero, associata al biomonitoraggio, consentirebbe una migliore comprensione della distribuzione dei metalli, sia a fini preventivi che in condizioni di criticità.

L'uso di SPMD e DGT ha permesso di rilevare la frazione biodisponibile di IPA, PCB e metalli o frazione disciolta, nell'acqua marina in quantità molto piccole e dell'ordine di pg L^{-1} e ng L^{-1} .

Nonostante i livelli di questi sostanze prioritarie e pericolose prioritarie siano risultate inferiori ai limiti stabiliti dalle Direttive 2008/105/CE e 2013/39/CE, tuttavia hanno rivelato le differenze tra i singoli IPA rilevati nelle due zone di campionamento, fornendo informazioni sulle fonti di inquinamento e confermando il campionamento passivo un valido strumento di prevenzione. L'impiego di accumulatori passivi di contaminanti organici e metalli pesanti sembra pertanto rappresentare una valida soluzione per il monitoraggio delle acque in sostituzione del campionamento puntuale, sia perché in grado di dare misure integrate nel tempo e basate su risposte analitiche più affidabili, sia perché permette valutazioni di carattere tossicologico rilevando la sola frazione biodisponibile.

Allegato 1 - Legislazione vigente inerente i valori limite degli IPA nelle acque superficiali

		D.Lgs 152/2006	Direttiva 2008/105	D.M. 56/2009	D.M. 260/2010	Direttiva 2013/39/CE
		SQA Acque superficiali	SQA Acque superficiali	SQA Acque superficiali	SQA Acque superficiali	SQA Acque superficiali
			MA-CMA	MA-CMA	MA-CMA	MA-CMA
			$\mu\text{g/L}$	$\mu\text{g/L}$	$\mu\text{g/L}$	$\mu\text{g/L}$
Naph	P					2 - 130
Aceph						
Ace						
Fl					0,1 - 0,1	
Phen						
Ant	PP				0,1 - 0,4	0,1 - 0,1
Flu	P					0,0063 - 0,12
Pyr						
BaA						
Chr						
B(b + k)F	PP		Σ 0,03 - non applicabile			Benzo(b)fluorantene 0 - 0,017 Benzo(k)fluorantene 0 - 0,017
BaP	PP					$1,7 \cdot 10^{-4}$ (0,00017) - 0,027
BeP						
Per						
Inp	PP		Σ 0,02 - non applicabile			non applicabile
BgP	PP					$8,2 \cdot 10^{-4} = 0,00082$
DBA						
Σ IPA						non applicabile

P sostanza prioritaria (presenta un rischio significativo per o attraverso l'ambiente acquatico)

PP sostanza pericolosa prioritaria (sostanze prioritarie persistenti, bioaccumulabili o comunque in grado di produrre livelli di allarme)

MA media annua

CMA concentrazione massima ammissibile

Allegato 2 – Legislazione vigente inerente i valori limite dei metalli nelle acque superficiali

Loconsole et al. 2012		D.Lgs 152/2006	2008/105/CE	D.M. 260/2010	2013/39/CE	
		Allegato 1 - Tab. 1 SQA Acque superficiali	SQA Acque superficiali. Per i metalli si riferisce alla concentrazione disciolta	SQA Acque superficiali. Per i metalli si riferisce alla concentrazione disciolta	SQA Acque superficiali. Si riferisce alla concentrazione biodisponibile della sostanza	
			MA-CMA	MA-CMA	MA-CMA	
		µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	
Ni	P		20	20 - 0	20 - 0	8,6 - 34
Cd	PP		1	0,2 - 0	0,2 - 0	0,2 - 0
Pb	P		10	7,2 - 0	7,2 - 0	1,3 - 14
Cu		2.6	parametro aggiuntivo			
Cr			50		4 - 0	
Hg	PP		1	0,05-0,07	0,01 - 0,06	0 - 0,07

P sostanza prioritaria (presenta un rischio significativo per o attraverso l'ambiente acquatico)

PP sostanza pericolosa prioritaria (sostanze prioritarie persistenti, bioaccumulabili o comunque in grado di produrre livelli di allarme)

MA media annua

CMA concentrazione massima ammissibile

BIBLIOGRAFIA

- Abdullah A., London O., 2008. Maritime traffic effect on biodiversity in the Mediterranean: review of impacts, priority areas and mitigations measures. Malaga, Spain: IUCN Centre for Mediterranean Cooperation, report 2008-042, 184 pp.
- Alfaro-De la Torre M.C., Beaulieu P.Y., Tessier A., 2000. In situ measurement of trace metals in lakewater using the dialysis and DGT techniques. *Anal. Chim. Acta.* 418, 53-68.
- Allan I.J., Vrana B., Greenwood R., Mills G.A., Guigues N., Knutsson J., Holmberg A., Laschi S., Fouillac A.M., 2006. Strategic monitoring for the EU Water Framework Directive, TrAC-Trends in Analytical Chemistry 25 (7), 704-715
- Allan I.J., Booij K., Paschke A., Vrana B., Mills G.A., Greenwood R., 2009. Field performance of seven passive sampling devices for monitoring of hydrophobic substances. *Environ. Sci. Technol.* 43, 5383-5390.
- Allan I. J., Booij K., Paschke A., Vrana B., Mills G.A., Greenwood R., 2010. Short-term exposure testing of six different passive samplers. *J. Environ. Monit.* 12, 696-703.
- Allan, S.E., Smith, B.W., Anderson, K.A., 2012. Impact of the deepwater horizon oil spill on bioavailable polycyclic aromatic hydrocarbons in Gulf of Mexico coastal waters. *Environ. Sci. Technol.* 46, 2033-2039.
- Alvarez D.A., Petty J.D., Huckins J.N., Lepp T.L.-J., Gettings D.T., Goddard J.P., Manahan S.E., 2004. Development of a passive, in situ integrative sampler for hydrophilic organic contaminants in aquatic environments. *Environ. Toxicology and Chemistry* 23, 1640-1648.
- of the semipermeable membrane devices (SPMD) and the polar organic chemical integrative sampler (POCIS) in environmental monitoring studies. *USGS Techniques and Methods Book 1-D4*, 27 pp.
- Andersen L., Melville F., Teasdale P., Richards R., 2009. Transplantated oysters, DGT and water grab samples: an application in monitoring industrial receiving waters. Conference on DGT and the Environment. Santa Margherita di Pula, Sardinia, Italy, 7-9 October 2009.
- Armitage J.M., Gobas F.A., 2007. A terrestrial food-chain bioaccumulation model for POPs. *Environ. Sci. Technol.* 41 (11), 4019-4025.
- ARPAS Ag. Reg. Protezione dell'ambiente della Sardegna, 2007. Piano di Monitoraggio Ambientale della Laguna di Santa Gilla e dello Stagno di Capoterra Relazione Conclusiva, 13pp.
- ATSDR, 1993. Chemical and Physical Information, in Toxicological profile for selected polychlorinated biphenyls (PCBs), Atlanta, Georgia, USA, pp. 209-221.
- Axelmann J.A. Naes K., Naf K., Broman D., 1999. Accumulation of polycyclic aromatic hydrocarbons in semipermeable membrane devices and caged mussels (*Mytilus edulis* L.) in relation to water column phase distribution. *Environ. Toxicol. Chem.* 11 (16), 2454-2461.
- Bacci E., Gaggi C., 1998. Bioconcentrazione, bioaccumulo e biomagnificazione. In: Ecotossicologia. A cura di Vighi M., Bacci E. UTET, Torino. ISBN: 88-02-05371-5, 143- 152.
- Barkay T., Turner R., Erwan S., Horn J., 1992. Mercury biotransformations and their potential for remediation of mercury

- contamination. *Biodegradation* 3, 147-159.
- Baumard P., Budzinski H., Garrigues P., 1998. Polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments and mussels of the Western Mediterranean Sea. *Environ. Toxicol. Chem.* 5 (17), 765–776.
- Booij K., Sleiderink H.M., Smedes F., 1998. Calibrating the uptake kinetics of semipermeable membrane devices using exposure standards. *Environ. Toxicol. Chem.* 7 (17), 1236–1245.
- Booij K., Zengers B.N., Boon J.P., 2002. Levels of some Polybrominated Diphenyl Ether (PDBE) flame retardant along Dutch coast as derived from their accumulation in SPMDs and blue mussels (*Mytilus edulis*). *Chemosphere* 46, 683-688.
- Booij K., Hofmans H.E., Fischer C.V., Van Weerlee E.M., 2003. Temperature dependent uptake rates of nonpolar organic compounds by semipermeable membrane devices and low-density polyethylene membranes. *Environ. Sci. Technol.* 37, 361–366.
- Booij K., Smedes F., Van Weerlee E.M., Honkoop P.I., 2006a. Environmental monitoring of hydrophobic organic contaminants: the case of mussels versus semipermeable membrane devices. *Environ. Sci. Technol.* 40, 3893–3900.
- Booij K., Van Bommel R., Mets A., Dekker A., 2006b. Little effect of excessive biofouling on the uptake of organic contaminants by semipermeable membrane devices. *Chemosphere* 64, 2485–2492.
- Brooks S., Kenneth M., 2000. Assessment of the environmental effects associated with wooden bridges preserved with creosote, pentachlorophenol, or chromated copper arsenate. *Res. Pap. FPL–RP*, 587. Madison, WI: U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Forest Products Laboratory.
- Burns K.A., Villeneuve L.P., 1987. Chlorinated hydrocarbons in the open Mediterranean ecosystem and implications for mass balance calculations. *Mar. Chem.* 20, 337–359.
- Bustamante P., Grigioni S., Boucher-Rodoni R., Caurant F., Miramand P., 2000. Bioaccumulation of 12 trace elements in the tissues of the nautilus *Nautilus macromphalus* from New Caledonia. *Mar. Pollut. Bull.* 40(8), 688-696.
- Bergqvist P.A., Strandberg B., Ekelund R., Rappe C.; Granmo A., Tempor A., 1998. Monitoring of organochlorine compounds in seawater by Semipermeable Membranes Devices following a flooding episode in Western Europe. *Environ. Sci. Technol.* 32, 3887-3892.
- Buosi C., Frontalini F., Da Pelo S., Cherchi A., Coccioni R., Bucci C., 2010. Foraminiferal prozie for environmental monitoring in the polluted lagoon of Santa Gilla (Sardinia Italy). *Present Environment and Sustainable Development* n. 10.
- Canli M., Atli G., 2003. The relationships between heavy metal (Cd, Cr, Cu, Fe, Pb, Zn) levels and the size of six Mediterranean fish species. *Environ. Pollut.* 121, 129-136.
- CEFIC, 2009. Final report of the High Level Group on the Competitiveness of the European Chemicals industry, 1-64.
- Cerniglia C.E., Heitkamp M.A., 1989. Microbial Degradation of PAH in the aquatic Environment. ed. U. Varanasi, 41-68. CRC press, Boca Raton, FL.
- Chan, K.M., 1994. PCR-cloning of goldfish and tilapia metallothionein

complementary DNAs. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 205, 368-374.

Cherchi A., Da Pelo S., Ibba A., Mana D., Buosi C., Floris N., 2009. Benthic foraminifera response and geochemical characterization of the coastal environment surrounding the polluted industrial area of Portovesme (South-Western Sardinia, Italy). *Mar. Pollut. Bull.* 59, 281-296.

Cidu R., Biddau R., Fanfani L., 2009. Impact of past mining activity on the quality of groundwater in SW Sardinia (Italy). *Jour. Geoch. Exploration* 100, 125-132.

C.R.S., 1981. Le Lagune in Sardegna una risorsa, Indagine della VI^a Commissione permanente sullo stato e sulle prospettive produttive delle acque salmastre, Regione Autonoma della Sardegna, Consiglio Regionale.

CNR Istituto di chimica e tecnologia dei radioelementi Padova, 1991. Relazione finale riguardante le ricerche svolte nell'ambito della convenzione approvata dalla Corte dei Conti in data 14 gennaio 1991 (20 dicembre 1991).

Coelho J.P. Reis A.T., Ventura S., Pereira M.E., Duarte A.C., and Pardal M.A. 2008. Pattern and pathways for mercury lifespan accumulation in *Carcinus maenas*. *Mar. Pollut. Bull.* 56, 1104-1110.

Cognetti Gi. e Cognetti Go., 1992. Inquinamenti e protezione del mare. Calderini Bologna, 1-318.

Commissione CE COM 88 - 27.02.2001.

Commissione CE COM 466 - 11.09.2009.

Commissione CE COM 534 - 09.07.2009

Convenzione MARPOL 73/78, Allegato I – Idrocarburi, V – Rifiuti.

Convenzione di Stoccolma 23.05.2001

Corsolini S., Ademollo N., Mariottini M., Fossi S., Guerranti C., Perra G., Duhamel G., and Focardi, S., 2002. Polychlorinated biphenyls, polychlorinated dibenzodioxin and dibenzofurans in mackerel icefish and marbled rock cod from the Kerguelen Islands (Antartica). *Organohalogen Compounds* 57, 161-164

Dachs, J., Bayona, J.M., Raoux, C., Albaiges, J., 1997. Spatial, vertical distribution and budget of polycyclic aromatic hydrocarbons in the Western Mediterranean seawater. *Environ. Sci. Technol.* 31, 682–688.

Das K., Beans C., Holsbeek L., Berrow S.D., Rogan E. and Bouquegneau J.M., 2003. Marine mammals from northeast Atlantic: evaluation of their trophic status by d13C and d15N and influence on their trace metal concentrations. *Mar. Environ. Research* 56, 349–365.

Das K., Lepoint G., Loizeau V., Debacker V., Dauby P., and Bouquegneau J.M., 2000. Tuna and dolphin associations in the northeast Atlantic: evidence of different ecological niches from stable isotope and heavy metal measurements. *Mar. Pollut. Bull.* 40(2), 102–109.

David A., Gomez E., Aïm-Aïssa S., Bachelot M., Rosain D., Casellas C., Fenet H., 2010. Monitoring organic contaminants in small French coastal lagoons: comparison of levels in mussel, passive sampler and sediment. *J. Environ. Monit.* 12, 1471–1481.

Davison W., Zhang H., 1994. In situ speciation measurements of trace components in natural waters using thin-film gels. *Nature* 367, 546-548.

Davison W., Hooda P., Zhang H., Edwards A.C., 2000. DGT measured fluxes as surrogates for uptake of metals by plants.

- Advances in Environ. Res.* Vol. 3, 550-555.
- Debacker V., Schiettecatte L.S., Jauniaux T. and Bouquegneau J.M., 2001. Influence of age, sex, and body condition on zinc, copper, cadmium and metallothioneins in common guillemots (*Uria aalge*) stranded at the Belgian coast. *Mar. Environ. Research* 52, 427 - 444.
- Decisione del Consiglio Europeo n. 507 del 14.10.2004
- Decreto Lgs. n. 22 del 05.02.1997
- Decreto Lgs. n. 196 del 19.08.2005
- Decreto Lgs. n. 152 del 14.04.2006
- Decreto Lgs. n. 202 del 06.11.2007
- Decreto Lgs. n. 219 del 10.12.2010
- Decreto Ministeriale 16.06.2008 n. 131
- Decreto Ministeriale 14.04.2009 n. 56
- Decreto Ministeriale 8.11.2010 n. 260. Criteri Tecnici per la classificazione dello stato dei corpi idrici superficiali - Modifica norme tecniche Dlgs 152/2006.
- Degetto S., Schintu M., Contu A., Sbrignadello G., 1997. Santa Gilla lagoon (Italy): a mercury sediment pollution case study. Contamination assessment and restoration of the site. *The Science of the Total Env.* 204, 49-56.
- De Luca G., Furesi A., Leardi R., Micera G., Panzanelli A., Piu P.C., Sanna G., 2004. Polycyclic aromatic hydrocarbons assessment in the sediments of the Porto Torres Harbor (Northern Sardinia, Italy). *Marine Chemistry* 86 (1-2), 15-32.
- Demirak A., Yilmaz F., Tuna A.L., Ozdemir N., 2006. Heavy metals in water, sediment and tissues of *Leuciscus cephalus* from a stream in southwestern Turkey. *Chemosphere* 63,1451-1458.
- Denney S., Sherwood J., Leyden J., 1999. In situ measurements of labile Cu, Cd and Mn in river waters using DGT. *Sci. Tot. Environ.* 239, 71-80.
- DGT Research, 2002. DGT for measurements in water, soils and sediments. DGT Research Ltd, Lancaster.
- Dichiarazione di Parigi 13.7.2008 e riferimenti relativi all'iniziativa Horizon 2020.
- Direttiva 96/59/CE 16.09.1996
- Direttiva 2000/60/CE 23.10.2000
- Direttiva 2005/35/CE 07.09.2005
- Direttiva 2006/7/CE 15.01.2006
- Direttiva 2008/56/CE 25.6.2008
- Direttiva 2008/105/CE 16.12.2008
- Direttiva 2009/90/CE 31.07.2009
- Direttiva 2009/123/CE 21.10.2009
- Direttiva 2013/39/CE 12/08/2013
- Docekalova H., Divis P., 2005. Application of diffusive gradient in thin films technique (DGT) to measurement of mercury in aquatic systems. *Talanta* 65, 1174-1178.
- Domi N., Bouquegneau J.M. and Das K. 2005. Feeding ecology of five shark species of the Celtic Sea through stable isotope and trace metals analysis. *Mar. Environ. Research* 60, 551-569.
- Duffus J.H., 2002. "Heavy metals" a meaningless term?. IUPAC Technical Report Pure and Applied Chemistry 74, 793-807.

- Dunn R.J.K., Teasdale P.R., Warnken J., Jordan M.A., Arthur J.M., 2007. Evaluation of the in situ, time-integrated DGT technique by monitoring changes in heavy metal concentrations in estuarine waters. *Environ. Pollution* 148, 213-220.
- Durel G., Utvik T. R., Johnsen S., Frost T., Neff J., 2006. Oil well produced water discharges in the North Sea. Part I: Comparison of deployed mussels (*Mytilus edulis*), Semi-Permeable Membrane Devices, and the DREAM model predictions to estimate the dispersion of Polycyclic Aromatic. *Mar. Environ. Research* 62, 194–223.
- Edwards J.W., Edyvane K.S., Boxall V.A., Hamann M. and Soole K.L., 2001. Metal levels in seston and marine fish flesh near industrial and metropolitan centres in South Australia. *Mar. Pollut. Bull.* 26, 389-396.
- EEA/OPOCE, 2007. Europe's environment. The fourth assessment. Report n. 1/2007.
- Eisler R., 1987. Polycyclic aromatic hydrocarbon hazards to fish, wildlife, and invertebrates: a synoptic Review. U.S. *Fish and Wildlife Service Biological Report* 85, 1-11.
- El-Nemr, A., Abd-Allah, A.M.A., 2003. Contamination of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in microlayer and subsurface waters along Alexandria coast, Egypt. *Chemosphere* 52, 1711–1716.
- Forsberg J., 2005. Trace Metal Speciation in Fresh and Brackish Waters Using Ultrafiltration, DGT and Transplanted Aquatic Moss. Licentiate Thesis, Division of Applied Geology Department of Chemical Engineering and Geosciences, Luleå University of Technology, Sweden.
- Fossi M.C., Ancora S., Casini S., Moscatella A., Ausili A., Notarbartolo-di-Sciarra G., 2001. Do endocrine disrupting chemicals threaten Mediterranean swordfish? Preliminary results of vitellogenin and Zona radiata proteins in *Xiphias gladius*. *Mar. Environ. Research* 52, 477-483.
- Fossi M.C., Casini S., Marsili L., Ancora S., Mori G., Neri G., Romeo T., Ausili A., 2004. Evaluation of ecotoxicological effects of endocrine disrupters during a fouryear survey of the Mediterranean population of swordfish (*Xiphias gladius*). *Mar. Environ. Research* 58, 425-429.
- Fouillard E., Trottet A., Bancon-Montigny C., Bouvy M., Le Floc'h E., Gonzalez J.L., Hatey E., Mas S., Mostajir B., Nougier J., Pecqueur D., Rochelle-Newall E., Rodier C., Roques C., Salles C., Tournoud M.G., Vidussi F., 2012. Impact of a river flash flood on microbial carbon and nitrogen production in a Mediterranean Lagoon (Thau Lagoon, France). *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 113, 192-204.
- Frontalini F., Buosi C., Da Pelo S., Coccioni R., Cherchi A., Bucci C., 2009. Benthic foraminifera as bio-indicators of trace element pollution in the heavily contaminated Santa Gilla lagoon (Cagliari, Italy). *Mar. Pollut. Bull.*, 58, 858-877.
- GESAMP/IMO/FAO/UNESCO/WMO/IAEA/UN/UNEP, 1984. Report of the fourteenth session 26-30 March. *Joint Group of Experts on the Scientific Aspects of Marine Pollution Reports and Studies* n. 21.
- Gimpel J., Zhang H., Hutchinson W., Davison W., 2001. Effect of solution composition, flow and deployment time on the measurement of trace metals by DGT. *Anal. Chim. Acta* 448, 93-103.
- Goldberg E.D., 1975. The mussel watch – A first step in global marine monitoring. *Mar. Poll. Bull.* 6, 111.

- Granmo, A., Ekelund, R., Berggren, M., Brorström-Lundén, E., Bergqvist, P.A., 2000. Temporal trend of organochlorine marine pollution indicated by concentrations in mussels, semipermeable membrane devices, and sediment. *Environ. Sci. Technol.* 34, 3323–3329.
- Greenwood R., Mills G.A., Roig B., 2007. Introduction of emerging tools and their use in water monitoring. *Trends Anal. Chem.* 26 (4), 263-267.
- Greenwood R, Mills GA and Vrana B (eds.), 2007. Passive sampling techniques in environmental monitoring. *Comprehensive Analytical Chemistry Series*, Amsterdam, Elsevier.
- Guigue, C., Tedetti, M., Giorgi, S., Goutx, M., 2011. Occurrence and distribution of hydrocarbons in the surface microlayer and surface water from the urban marine area off Marseilles, Northwestern Mediterranean Sea. *Mar. Pollut. Bull.* 62, 2741–2752.
- Guitart, C., García-Flor, N., Bayona J.M., Albaigés J., 2007. Occurrence and fate of polycyclic aromatic hydrocarbons in the coastal surface microlayer. *Mar. Pollut. Bull.* 54, 186-194.
- Gustafson, K.E., Dickhut, R.M., 1997. Distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in southern Chesapeake Bay surface water: evaluation of three methods for determining freely dissolved water concentrations. *Environ. Toxicol. Chem.* 16 (3), 452–461.
- Harman C., Thomas K.V.; Tollefsen K.E., Meier S., Boyum O., Grung M., 2009. Monitoring the freely dissolved concentration of polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) and alkylphenols (AP) around a Norwegian oil platform by holistic passive sampling. *Mar. Poll. Bull.* 58, 1671-1679.
- Harman C., Brooks S., Sundt Rolf C., Meier S., Grung M., 2011. Field comparison of passive sampling and biological approaches for measuring exposure to PAH and alkylphenols from offshore produced water discharges. *Mar. Pollut. Bull.* 63, 141-148.
- Hobman J.L., Wilson J.R. and Brown N.L. 2000. Microbial mercury reduction. In: Lovley, D.R.(Ed.), Environmental Microbe – Metal Interactions. *Am. Soc. Microbiol.* Washington, 177 - 197.
- Hodson P.V., Blunt B.R., Spry D.J., 1978. Chronic toxicity of water-borne and dietary lead to rainbow trout (*Salmo gairdneri*) in Lake Ontario water. *Water Res.* 12, 869-878.
- Huckins J.N., Tubergen M.W., Manuweera G.K., 1990. Semipermeable Membrane Devices containing model lipid: A new approach to monitoring the bioavailability of lipophilic contaminants and estimating their bioconcentration potential. *Chemosphere* 20, 533-552.
- Huckins J.N., Manuweera G.K., Petty J.D., Mackay D., Lebo J.A., 1993. Lipid-containing Semipermeable Membrane Devices for monitoring organic contaminants in water. *Environ. Sci. Technol.* 27, 2489-2496.
- Huckins, J.N., Petty, J.D., Lebo, J.A., Almeida, F.V., Booij, K., Alvarez, D.A., Cranor, V.L., Clark, R.C., Mogensen, B.B., 2002. Development of the permeability performance reference compound approach for in situ calibration of semipermeable membrane devices. *Environ. Sci. Technol.* 36, 85–91.
- Huckins, J.N., Petty, J.D., Booij, K., 2006. Monitors of organic chemicals in the environment: semipermeable membrane devices. Springer Science + Business Media, LCC, New York.

- IARC, 1990. Nickel and Nickel compounds. Cr, Ni and welding 49, 257-445.
- IARC, 2008 Air Pollution, Part 1, Some Non-heterocyclic Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Some Related Industrial Exposures.
- ICRAM, 2007. Criteri generali per la definizione delle condizioni di riferimento dei corpi idrici di transizione ai sensi della Direttiva 2000/60/CE, 1-23
- ISS, 2004. Adriatic Sea water quality and related chemical risk. MURST/CNR project "Prisma 2", final report. Rapporti ISTISAN 04/4, 158 pp.
- Jewett S.C., Naidu S., 2000. Assessment of heavy metals in red king crabs following offshore placer glod mining. *Mar. Pollut. Bull.* 40(6), 478-490.
- Kagi J.H.R., Schaffer A., 1988. Biochemistry of metallothionein. *Biochemistry and Biophysics Research Communications* 27, 8509-8515.
- Kai N., Hueda T., Takeda Y., Kat A., 1987. Accumulation of mercury and selenium in blue marlin. *Nippon Suisan Gakkaishi* 53(9), 1697.
- Kalay M. Ay O., Canli M., 1999. Heavy metals concentrations in fish tissues from the north-east Mediterranean sea. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 8, 273.
- Keith L., 1991. Environmental sampling and analysis: a practical guide. Boca Raton Fl, CRC Press, 143 p.
- Knutzen J., 1995. Effects on marine organisms from polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) and other constituents of waste water from aluminium smelters with examples from Norway Original Research. *Sci. of the Total Environ.* 163, 107-122.
- Komarova, T.V., Bartkow, M.E., Rutishauser, S., Carter, S., Mueller, J.F., 2009. Evaluation and in situ assessment of photodegradation of polyaromatic hydrocarbons in semipermeable membrane devices deployed in ocean water. *Environ. Pollut.* 157, 731–736.
- Kukkonen, J., Landrum, P.F., 1996. Distribution of organic carbon and organic xenobiotics among different particle-size fraction in sediments. *Chemosphere* 6 (32), 1063–1076.
- Lafabrie C., Pergent G., Kantin R., Pergent-Martini C., Gonzalez J.L., 2007. Trace metals assessment in water, sediment, mussel and seagrass species. Validation of the use of *Posidonia oceanica* as a metal biomonitor. *Chemosphere* 68(11), 2033-2039.
- Lafabrie C., Pergent-Martini C., Pergent G., 2008. Metal contamination of *Posidonia oceanica* meadows along the Corsican coastline (Mediterranean). *Environ. Pollution* 15, 262-268.
- Lafabrie C., Garrido M., Leboulanger C., Cecchi P., Grégori G., Pasqualini V., Pringault O., 2013. Impact of contaminated-sediment resuspension on phytoplankton in the Biguglia lagoon (Corsica, Mediterranean Sea). *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 130, 70-80.
- Landrum, P.F., 1989. Bioavailability and toxicokinetics of polycyclic aromatics hydrocarbons absorbed to sediments for the amphipod *Pontoporeia hoyl*. *Environ. Sci. Technol.* 29, 588–595.
- Langston W.J., 1990. Toxic effects of metals and the incidence of metal pollution in marine ecosystems. In: *Heavy Metal in the Marine*
- Larner B.L., Seen A.J., Snape I., 2006. Evaluation of diffusive gradients in thin film (DGT) samplers for measuring

- contaminants in the Antarctic marine environment. *Chemosphere* 65, 811-820.
- Lebo J.A., Gale R.W., Petty J.D., Tillitt D.E., Huckins J.N., Meadows J.C., Orazio C.E., Echols K.R., Schroeder D.J., Inmon L.E., 1995. Use of the Semipermeable Membrane Device in an *in situ* sampler of waterborne bioavailable PCDD and PCDF residues at sub-part-per-quadrillion concentrations. *Environ. Sci. Technol.* 29, 2886-2892.
- Lebo J.A., Zajicek J.L., May T.W., Smith L.M., 1989. Large-scale preparation of potassium hydroxide-modified silica gel adsorbent. *J. Ass. Oc. Off. Anal. Chem.* 72, 371-373.
- Legge n. 979 del 31.12.1982
- Legge n. 220 del 28.02.1992
- Legge 51 del 14.03.2001
- Legge n. 13 del 09.01.2006
- Legge n. 19 del 01.02.2010
- Lipiatou E., Tolosa I., Simò R., Boloubassi I., Dachs J., Marti, S. Sicre M.A., Bayona J.M., Grimalt J.O., Saliot A., Albaigés J., 1997. Mass budget and dynamics of polycyclic aromatic hydrocarbons in the Mediterranean Sea. *Deep-Sea Res.* II 44, 881-905.
- Loconsolo V., Crespi M., 2012. Rame e leghe di rame. Aggiornamenti tecnologici. *G. Ital. Med. Lav. Erg.* 34 (3), 255-258.
- Lohmann R., Muir D., 2010. Global Aquatic Passive Sampling (AQUA-GAPS): Using Passive Samplers to Monitor POPs in the Waters of the World. *Environ. Sci. Tech.* 44, 860-864.
- Luellen D.R., Shea D., 2002. Calibration and field verification of semipermeable membrane devices for measuring polycyclic aromatic hydrocarbons in water. *Environ. Sci. Technol.* 36, 1791-1797.
- Mathews T., Fisher N.S., Jeffree R.A., Teysse J.L., 2008. Assimilation and retention of metals in teleost and elasmobranch fishes following dietary exposure. *Marine Ecology Progress Series* 368, 1-12.
- McCready S., Slee G. F., Birch G.F., Taylor S.E., 2000. The distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in surficial sediments of Sydney Harbor, Australia. *Mar. Pollut. Bull.* 40, 999-1006.
- Meaburn G.M., 1978. Heavy metal contamination of Spanish mackerel, *Scomberomorus maculatus*, and king mackerel, *S. cavalla*. Proceedings of the mackerel colloquium 16(March), 61 - 66.
- Mearns J., 1982. Assigning trophic levels to marine animals. Annual Report of Southern California Coastal Water Research Project, 125 - 141.
- Miège C., Mazzella N., Schiavone S., Dabrin A., Berho C., Ghestem J.P., Gonzalez G., Gonzalez J.L., Lalere B., Lardy-Fontan S., Lepot B., Munaron D., Tixier C., Togola A., Coquery M., 2012. An *in situ* intercomparison exercise on passive samplers for monitoring metals, polycyclic aromatic hydrocarbons and pesticides in surface waters. *Trends in Anal. Chem.* 36, 128-143.
- Mills G.A., Greenwood R., Gonzalez C., 2007. Environmental monitoring within the Water Framework Directive (WFD). *Trends Anal. Chem.* 26, 450-453.
- Mills G. A., Greenwood R., Vrana B., Allan I.J., Ocelka T., 2011. Measurement of environmental pollutants using passive sampling devices – a commentary on the current state of the art. *J. Environ. Monit.* 13, 2979.

- Mishra S., Bhalke S., Saradhi I.V., Suseela B., Tripathi R.M., Pandit G.G., Puranik V.D., 2007. Trace metals and organometals in selected marine species and preliminary risk assessment to human beings in Thane Creek area, Mumbai. *Chemosphere* 69, 972-978.
- MOMAR PO Italia- Francia Marittimo, 2009. Manuale per la gestione del Progetto MOMAR, 1-13.
- Munksgaard N.C., Parry D.L., 2003. Monitoring of labile metals in turbid coastal seawater using diffusive gradient in thin films. *J. Environ. Monit.* 5, 145-149.
- Neff J.M., 1979. Polycyclic aromatic hydrocarbons in the aquatic environment. Sources, fates and biological effects. *Barking UK Applied Science Publishers*, 1-262.
- Olafson R.F., 1984. Prokaryotic metallothionein. *Internat. J. Peptide Protein Res.* 24, 303-308.
- Papetti P., Rossi, G., 2009. Heavy metals in the fishery products of low Lazio and the use of metallothionein as a biomarker of contamination. *Environ. Monit. and Assessment*, vol. 159, 589-598, ISSN: 0167-6369, doi: 10.1007/s10661-008-0725-4.
- Parlati E., 1990. Utilisation des hydrocarbures comme traceurs d'origine de la matière organique sédimentaire en milieu marin. Etude du Golfe de Lyon et du Golfe de Gascogne (Programme Ecomerge) PhD thesis Nr 495, University Bordeaux I, Bordeaux, France, 289 pp.
- Pavan I., Baroffio C., Passini V., Bilei T., Pira E., Minoia C., 2003. Policlorobifenili: valori di riferimento *G. Ital. Med. Lav. Erg.* 25 (1), 61-67.
- Peters A., Zhang H., Davison W., 2003. Investigation of the application of DGT devices for measurement of trace metals in low ionic strength freshwaters. *Anal. Chim. Acta* 478, 237-244.
- Petty J.D., Oratio C.E., Huckins J.N., Gale R.W., Lebo J.A., Meadows J.C., Echols K.R., Cranor W.L., 2000b. Considerations involved with the use of Semipermeable Membrane Devices for monitoring environmental contaminants. *J. Chromatogr. A* 879, 83-95.
- Petty J.D., Huckins J.N., Alvarez D.A., Brumbaugh W.G., Cranor W.L., Gale R.W., Rastall A.C., Jones-Lepp T.L., Leiker T.J., Rostad C.E., Furlong E.T., 2004. A holistic passive integrative sampling approach for assessing the presence and potential impacts of waterborne environmental contaminants. *Chemosphere* 54 (6), 695-705.
- Petty J.D., Jones S.B., Huckins J.N., Cranor W.L., Parris J.T., McTague T.B., Boyle T.P., 2000a. An approach for assessment of water quality using semipermeable membrane devices (SPMDs) and bioindicator tests. *Chemosphere* 41, 311-321.
- Petty J.D., Orazio C.E., Huckins J.N., Gale R.W., Lebo J.A., Meadows J.C., Echols K.R., Cranor W.L., 2000b. Consideration involved with the use of semipermeable membrane devices for monitoring environmental contaminants. *J. Chromatogr. A* 879, 83-95.
- Peven C.S., Uhler A.D., Querzoli F.J., 1996. Caged mussels and semipermeable membrane devices as indicators of organic contaminant uptake in Dorchester and Duxbury Bays, Massachusetts. *Environ. Toxicol. Chem.* 2, 144-149.
- Piana A., Sechi N., Masia M.D., Azara A., Muresu E. and Maisa A., 2006. Monitoring on chemical and biological pollutants in sea waters of central-northern Sardinia. *J.*

- of Preventive Medicine and Hygiene* 47, 49-55.
- Phillips D.H., 1999. Polycyclic aromatic hydrocarbons in the diet. *Mutation Research* 443, 139-147.
- Porcu A., 1976. L'evoluzione geomorfologica degli stagni di Cagliari e loro rappresentazione cartografica dal 1834 ad oggi, *Pubbl. Ist. di Geol., Paleont. e Geografia fisica di Cagliari* 174, 1-16.
- Progetto Life Natura '96 "Gilia", 1999-2003.
- Rainbow P.S., 1988. The significance of trace metal concentrations in decapods. In: *Aspects of Decapod Crustaceans Biology*, eds. A.A. Fincham and P. S. Rainbow, Symposium of the Zoological Society of London, 59, 291-313.
- Rantalainen, A.L., Cretney, W.J., Ikonomou, M.G., 2000. Uptake rates of semipermeable membrane devices (SPMDs) for PCDDs, PCDFs and PCBs in water and sediment. *Chemosphere* 40, 147-158.
- Regolamento del Parlamento e del Consiglio Europeo n.850 del 29.04.2004
- Regolamento del Parlamento e del Consiglio Europeo n.1907 del 18.12.2006
- Regolamento della Commissione Europea n. 1967 del 21.12.2006
- Regolamento della Commissione Europea n. 519 del 19.06.2012
- Regolamento della Commissione Europea n. 126 del 13.02.2013
- Richardson B.J., Lam P.K.S., Zheng G.J., McClellan K.E., De Luca-Abbott S.B., 2002. Biofouling confounds the uptake of trace organic contaminants by semipermeable membrane devices (SPMDs). *Mar. Pollut. Bull.* 44, 1372-1379.
- Richardson B.J., Zheng G.J., Tse E.S.C., De Luca-Abbott S.B., Siu S.Y.M., Lam P.K.S., 2003. A comparison of polycyclic aromatic hydrocarbon and petroleum hydrocarbon uptake by mussels (*Perna viridis*) and semi-permeable membrane devices (SPMDs) in Hong Kong coastal waters. *Environ. Pollut.* 122, 223-227.
- Richter O.R., Theiss T.L., 1980. Nickel speciation in a soil/water system. Nickel in the Environment, 189-202.
- Roach A.C., Muller R., Komarova T., Symmons R., Stevenson G.J., Mueller J.F., 2009. Using SPMDs to monitor water column concentration of PCDDs, PCDFs and dioxin-like PCBs in port Jackson (Sydney Harbour), Australia. *Chemosphere* 75, 1243-1251.
- Rossi R., Cannas A., 1992. Gli stagli sardi dalla pesca tradizionale all'uso di nuove tecnologie. *Oebalia*, suppl. XVII, 1-10.
- Ruzzenenti M., 2003. La storia dei PCB (policlorobifenili). Miracoli e disastri della tecnica del novecento. Altrionovecento. n.6 febbraio 2003.
- Sandor Z., Csengeri I., Oncsik M.B., Alexis M.N. and Zubcova E., 2001. Trace metal levels in freshwater fish, sediment and water. *Environmental Science and Pollution Research* 8(4), 265-268.
- Schintu M., Degetto S., 1999. Sedimentary records of heavy metals in the industrial harbour of Portovesme, Sardinia (Italy). *Sci. Total Env.* 241(1-3), 129-141.
- Schintu M., Durante L., Maccioni A., Meloni P., Degetto S., Contu A., 2008. Measurement of environmental trace-metal levels in Mediterranean coastal areas with transplanted mussels and DGT techniques. *Mar. Pollut. Bull.* 57, 832-837.

- Schintu M., Marras B., Maccioni A., Puddu D., Meloni P., Contu A., 2009. Monitoring trace metal concentrations in sites around Sardinia, Western Mediterranean. *Mar. Pollut. Bull.* 58, 1577-1583.
- Schintu M., Marras B., Durante L., Meloni P., Contu A., 2010. Macroalgae and DGT as indicators of available trace metals in marine coastal waters near a lead-zinc smelter. *Environ. Monit. Assess.* 167, 653-661.
- Shaw M., Tibberts I.R., Muller J.F., 2004. Monitoring PAHs in the Brisbane River and Moreton Bay, Australia, using semipermeable membrane devices and EROD activity in yellowfin bream, *Acanthopagrus australis*. *Chemosphere* 56, 237-246.
- Silliman J.E., Meyers P.A., Eadie B.J., Val Klump J., 2001. A hypothesis for the origin of perylene based on its low abundance in sediments of Green Bay, Wisconsin. *Chemical Geology* 177, 309-322.
- Siviero L., 2002. Unitizzazione dei traffici marittimi ed innovazione nelle funzioni portuali nel Mezzogiorno. Università degli studi di Napoli "Federico II" - Dipartimento di Scienze Economiche e Sociali, 16 pp.
- Song Y.F., Jing X., Fleischmann S., Wilke B.M., 2003. Comparative study of extraction methods for the determination of PAHs from contaminated soils and sediments. *Chemosphere* 42, 993-1001.
- Storelli M.M., Marcotrigiano G.O., 2001. Total Mercury Levels in Muscle Tissue of Swordfish (*Xiphias gladius*) and Bluefin Tuna (*Thunnus thynnus*) from the Mediterranean Sea (Italy). *J. of Food Protection* 64(7), 1058-1061.
- Storelli M.M., Giacomini-Stuffer R., Storelli A., Marcotrigiano G.O., 2005. Accumulation of mercury, cadmium, lead and arsenic in swordfish and bluefin tuna from the Mediterranean Sea: A comparative study. *Mar. Pollut. Bull.* 50, 993-1018.
- Stout S., Magar V., Uhler R., Ickes J., Abbott J., Brenner R., 2001. Characterization of naturally occurring and anthropogenic PAHs in urban sediments – wycoff/eagle harbor superfund site. *Environmental Forensics* 2, 287-300.
- Sundberg H., Tjarnlund U., Akerman G., Blomberg M., Ishaq R., K. Grunder, Hammar T., Broman D., Balk L., 2005. The distribution and relative toxic potential of organic chemicals in a PCB contaminated bay. *Mar. Pollut. Bulletin* 50, 195-207.
- Suk S.H., Smith S.E., Ramon D.A., 2009. Bioaccumulation of mercury in pelagic sharks from the northeast Pacific Ocean. *CalCOFI Rep.* 50, 172-177.
- Teasdale P., 2009. Research challenges and opportunities for DGT measurements in natural waters. In: Conference on DGT and the Environment. Santa Margherita di Pula, Sardinia, Italy, 7-9 October 2009.
- Tedetti M., Guigue C., Goutx M., 2010. Utilization of a submersible UV fluorometer for monitoring anthropogenic inputs in the Mediterranean coastal waters. *Mar. Pollut. Bull.* 60, 350-362.
- Tolosa I., Readman J.W., Fowler S.W., Villeneuve J.P., Dachs J., Bayona J.M., Albaiges J., 1997. PCBs in the Western Mediterranean. Temporal trends and mass balance assessment. *Deep-Sea Res.* II 44, 907-928.
- Twiss M.R., Moffett J.W., 2002. Comparison of copper speciation in coastal marine waters measured using analytical voltammetry and diffusion gradient in thin-film techniques. *Environ. Sci. Technol.* 36,

1061-1068.

Uher E., Buzier R., Ferreira D., Pernet-Coudrier B., Tusseau-Vuillemin M.H., 2009. Are the labile metals sampled by DGT representative of the bioavailable fraction? In: Conference on DGT and the Environment. Santa Margherita di Pula, Sardinia, Italy, 7-9 October 2009.

Umweltbundesamt and TNO Institute of Environmental Sciences, Energy Research and Process Innovation, 1997. The European Emission Inventory of Heavy Metals and Persistent Organic Pollutants for 1990.

UNEP (2001). Stockholm convention on persistent organic pollutants (POPs). www.chem.unep.ch.

U.S. Army Corps of Engineers (COE) and Environmental Protection Agency (EPA), Region II, "Guidance for performing tests on dredged material to be disposed of ocean waters". New York December 1984.

Utvik T.I.R., Durell G.S., Johnsen S., 1999. Determining Produced Water Originating Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in North Sea Waters. Comparison of sampling techniques. *Mar. Pollut. Bull.* 38, 977-989.

Utvik T.I.R., Johnsen S., 1999. Bioavailability of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the North Sea. *Environ. Sci. Technol.* 33, 1963-1969.

Vetter W., Haase-Aschoff P., Rosenfelder N., Komarova T., Mueller J.F., 2009. Determination of halogenated natural products in passive samplers deployed along the Great Barrier Reef, Queensland/Australia. *Environ. Science and Technology* 43, 6131-6137.

Vrana B., Mills G.H., Allan I.J., Dominiak E., Svensson K., Knutsson J., Morrison G., Greenwood R., 2005. Passive sampling

techniques for monitoring pollutants in water. *Trends Anal. Chem.* 24 (10), 845-868.

Vrana B., Mills G.A., Leonards P.E.G., Kotterman M., Weideborg M., Hajslova J., Kocourek V., Tomaniova M., Pulkrabova J., Suchanova M., Hajkova K., Herve S., Ahkola H., Greenwood R., 2010. Field performance of the Chemcatcher passive sampler for monitoring hydrophobic organic pollutants in surface water. *J. Environ Monit.* 12, 863-872.

VV. AA., 2012. Metodologie di Monitoraggio dell'Ambiente Marino-Pubblicazione Finale del progetto MOMAR. (<http://www.mo-mar.net/images/rapporto_finale_momar.pdf>).

Webb J.A., Keough M.J., 2002. Measurement of environmental trace metal levels with transplanted mussels and diffusive gradients in thin films (DGT): a comparison of techniques. *Mar. Pollut. Bull.* 44, 222-229.

White S.L., Rainbow P.S., 1982. Regulation and Accumulation of Copper, Zinc and Cadmium by the Shrimp *Palaemon elegans*. *Mar. Ecology Progress Series* 8, 95-101.

WHO, 1988. Chromium, Environmental Health Criteria, 61.

WHO, 1990. MethylMercury, Environmental Health Criteria, 101.

WHO, 1991. Inorganic Mercury, Environmental Health Criteria, 118.

WHO, 1991. Nickel, Environmental Health Criteria, 108.

WHO, 1992. Cadmium. Environmental Health Criteria, 134.

WHO, 1993. Guidelines for drinking water quality, 1.

WHO, 1995. Inorganic Lead, Environmental Health Criteria, 165.

WHO/IPCS, 1998. Selected non-heterocyclic polycyclic aromatic hydrocarbons. Environmental Health Criteria 202, Geneva.

Young D.R., Mearns A.J., Jan T.K., Heesen T.C., Moore M.D., Eganhouse R.P., Hershelman G.P. and Gosset R.W. 1980. Trophic structure and pollutant concentrations in marine ecosystem of southern California. *CalCOFI Rep.* 21, 197-206.

Zhang H., Davison W., 1995. Performance characteristics of the technique of diffusion gradients in thin-films (DGT) for the measurement of trace metals in aqueous solution. *Anal. Chem.* 67, 3391-3400.

Zhang H., Davison W., Statham P., 1996. In situ measurements of trace metals in seawater using diffusive gradients in thin-films (DGT). International Symposium on the Geochemistry of the Earth's surface, Ed. S.H. Bottrell, University of Leeds, pp 138-142.

Zhang, H., Davison W., 2000. Direct In Situ Measurements of Labile Inorganic and Organically Bound Metal Species in Synthetic Solutions and Natural Waters Using DGT. *Anal. Chem.* 72 (18), 4447-4457.

Zhang, H., Davison W., 2001. In situ speciation measurements. Using diffusive gradients in thin films (DGT) to determine inorganically and organically complexed metals. *Pure Appl. Chem.* 73, 9-15.

Ringraziamenti

Desidero ringraziare il Prof. Angelo Cau per avermi incoraggiato ad intraprendere questo percorso, per le opportunità e il supporto che mi ha dato in questi anni.

Un ringraziamento particolare al Prof. Marco Schintu responsabile della Sezione Ambientale del Dip. di Sanità Pubblica Medicina Clinica e Molecolare e Responsabile del progetto MOMAR per l'Università degli Studi di Cagliari, che mi ha consentito di approfondire le conoscenze relativamente a metodiche innovative di campionamento.

Un grazie speciale ad Dr. Alessandro Marrucci e Dr. Barbara Marras per aver messo a disposizione le loro conoscenze e professionalità nella realizzazione di questo studio e per la disponibilità dimostrata.

Ringrazio Giovanni, che in questi tre anni mi ha incoraggiata e sostenuta, mia madre, la mia famiglia e le ultime arrivate Martina e Alice per la gioia che ci danno e alla cui generazione abbiamo il dovere di lasciare il pianeta nelle migliori condizioni possibili.

*Grazie di cuore a tutti
Susanna*