



Università
Ca' Foscari
Venezia

Corso di Laurea magistrale
(*ordinamento ex D.M. 270/2004*)
in Scienze Ambientali

Tesi di Laurea

—

Ca' Foscari
Dorsoduro 3246
30123 Venezia

**Biorisanamento del
Bacino dell'Arsenale
Vecchio di Venezia.**
Verifica della persistenza del
trattamento attraverso
comparazione con aree
adiacenti non trattate.

Laureando
Christian Stocco
Matricola 828104

Anno Accademico
2011/ 2012

Indice generale

1. Indice degli acronimi e abbreviazioni.....	6
2. Scopo dello studio.....	8
3. Idrocarburi Policiclici Aromatici.....	9
3.1 Fonti di IPA in ambiente.....	10
3.1.1 Idrocarburi come sottoprodotti.....	11
3.1.2 IPA come prodotti commerciali.....	11
3.2 Influenza del processo di formazione e rapporti isomerici.....	11
3.3 Tossicità e cancerogenicità.....	13
3.3.1 Vie di assimilazione degli IPA.....	15
3.3.2 Meccanismo di attivazione.....	16
3.3.2.1 Cancerogenicità del Benzo[a]pirene.....	20
3.4 Valutazione della cancerogenicità.....	21
4. Degradazione microbica degli IPA.....	24
4.1 Aerobiosi, anossia, anaerobiosi.....	25
4.2 Limitazioni allo studio della degradazione microbica.....	25
4.3 Batteri.....	26
4.3.1 Metabolismo aerobico.....	26
4.3.2 Metabolismo anaerobico.....	30
4.4 Funghi.....	31
4.5 Alghe.....	32
4.6 Panoramica sulla biodegradazione degli IPA.....	33
4.7 Cinetiche di degradazione microbica.....	35
4.8 Il triangolo della biodegradazione.....	36
4.8.1 Condizioni ambientali.....	36
4.8.1.1 Temperatura.....	36
4.8.1.2 pH.....	37
4.8.1.3 Contenuto in umidità.....	37
4.8.1.4 Nutrienti.....	38
4.8.1.5 Potenziale Redox e disponibilità di accettori di elettroni.....	39
4.8.2 Capacità metaboliche delle popolazioni.....	40
4.8.3 Biodisponibilità dell'inquinante.....	41
4.8.3.1 Soluzioni per l'aumento della biodisponibilità degli IPA.....	42
5. Legislazione nazionale in materia di sedimenti.....	43
5.1 Gestione dei sedimenti e standard di qualità.....	43
5.2 Gestione dei sedimenti portuali da Gennaio 2012.....	45
6. Gestione dei sedimenti contaminati.....	48
6.1 Tecnologie convenzionali.....	48
6.1.1 Dragaggio e tecniche correlate.....	48
6.1.1.1 Dragaggio.....	48
6.1.1.2 Escavazione a secco.....	48
6.1.2 Capping e tecnologie correlate.....	48
6.1.2.1 Capping.....	48
6.1.2.2 Stuoie geotessili.....	49
6.1.2.3 Miscelazione del sedimento con agenti assorbenti.....	49
6.1.3 Monitored natural recovery (MNR).....	49
6.2 Tecnologie di rimedio.....	50
6.2.1 Trattamenti termici.....	50

6.2.1.1	4.5.1 Desorbimento termico.....	51
6.2.1.2	Vetrificazione.....	51
6.2.2	Trattamenti chimico-fisici.....	51
6.2.2.1	Sediment washing.....	52
6.2.2.2	Stabilizzazione/solidificazione.....	53
6.2.2.3	Ossidazione chimica.....	54
6.2.2.4	Elettrocinesi.....	54
6.2.2.5	Flottazione.....	55
6.2.3	Trattamenti biologici.....	55
6.2.3.1	4.7.1 Bioreattori.....	56
6.2.3.2	Landfarming.....	57
6.2.3.3	Biopile.....	58
6.2.3.4	Areazione.....	59
6.2.3.5	Compostaggio.....	59
6.2.3.6	Biorimedio in CDFs (Confined Disposal Facilities).....	59
6.2.3.7	Fitorimedio.....	59
6.2.3.8	Aggiunta di accettori di elettroni in situ.....	60
6.3	Collocazione dell'intervento di Bio2remediation®.....	65
7.	La Laguna di Venezia.....	67
7.1	Caratteristiche morfologiche.....	68
7.2	Problemi ambientali.....	69
7.2.1	Inquinamento.....	69
7.2.1.1	Stato attuale.....	70
7.2.2	Degrado morfologico e subsidenza.....	73
7.3	Gestione dei sedimenti in Laguna.....	74
7.4	Confronto con altri criteri di valutazione della qualità dei sedimenti.....	76
8.	Intervento di Bio2Remediation®.....	80
8.1	La sperimentazione a Porto Marghera.....	80
8.2	L'intervento all'Arsenale.....	81
8.2.1	L'Arsenale di Venezia.....	81
8.2.1.1	Storia.....	83
8.2.1.2	Stato attuale.....	84
8.2.2	Descrizione dell'Intervento.....	84
9.	Materiali e metodi.....	90
9.1	Campionamento.....	90
9.2	Rapporti secco/umido.....	90
9.3	Standard.....	91
9.4	Estrazione.....	91
9.5	Concentrazione e purificazione.....	91
9.6	Analisi.....	92
9.6.1	Condizioni strumentali del gascromatografo.....	93
9.6.2	Temperatura programmata della colonna.....	93
9.6.3	Condizioni strumentali dello spettrometro di massa	93
9.7	Quantificazione.....	93
10.	Risultati e discussione.....	95
10.1	Risultati.....	95
10.2	Discussione.....	101
10.2.1	Tossicità equivalente.....	104

10.2.2 Stima dell'efficacia dell'intervento.....	114
10.2.3 Identificazione delle fonti mediante utilizzo di fingerprints.....	119
11. Conclusioni.....	130
12. Allegato.....	132
13. Bibliografia.....	139
13.1 Tesi consultate.....	144
13.2 Materiale di studio.....	145
13.3 Fonti Legislative.....	145

1. INDICE DEGLI ACRONIMI E ABBREVIAZIONI

Idrocarburi Policiclici Aromatici (IPA)

Abbreviazione	Significato
Naph	Naftalene
Ace	Acenaftilene
Acy	Acenaftene
Fl	Fluorene
Phe	Antracene
Ant	Fenantrene
Fluo	Fluorantene
Pyr	Pirene
BaA	Benzo[a]Antracene
Chry	Crisene
BaP	Benzo[a]Pirene
BbF	Benzo[b]Fluorantene
BkF	Benzo[k]Fluorantene
BghiP	Benzo[g,h,i]Perilene
IndP	Indeno[1,2,3-c,d]Pirene
DbahA	Dibenzo[a,h]Antracene
ΣIPA	Totalità degli IPA

Acronimo o abbreviazione	Significato
AHR	Aryl-Hydrocarbon Receptor
CYP	CYtochrome P450
DNA	DeoxyRibonucleic Acid
EAB	Enhanced Aerobic Bioremediation
EH	Epoxide Hydrolase
HMW PAHs	High Molecular Weight Polycyclic Aromatic Hydrocarbons
IARC	International Agency of Research on Cancer
ICZM	Integrated Coastal Zones Management
IPA	
IPCS	International Panel on Chemical Safety
LMW PAHs	Low Molecular Weight Polycyclic Aromatic Hydrocarbons

OEHHA	Office of Environmental Health Hazard Assessment
PAH	Polycyclic Aromatic Hydrocarbons
PEF	Potency Equivalency Factor
PEQ	Potency Equivalent
PEV	Potency Equivalency Value
PSE	Pressure Solvent Extractor
RBPM	River Basin Processes and Management
SBR	Sulphate Reducing Bacteria
SIM	Selected Ion Monitoring
SQA-MA	
SQG	Sediment Quality Guidelines
SVE	Soil Vapour Extraction
TEF	Toxic Equivalency Factor
TEQ	Toxic Equivalent
TEV	Toxic Equivalency Value
US EPA	United States Environmental Protection Agency
US EPA IRIS	US EPA Integrated Risk Information System
US EPA OSWER	US EPA Office of Solid Waste and Emergency Response
WTR	White Rot Fungi
XRE	XenoBiotic Response

2. SCOPO DELLO STUDIO

Nell'estate del 2009 era effettuato, nella Darsena dell'Arsenale Vecchio, Arsenale di Venezia, un intervento di bonifica dei sedimenti attraverso ossigenazione forzata dei fondali denominato BIO₂REMEDICATION® (Ravagnan, 2012) che avrebbe dovuto riattivare la comunità microbica in grado di degradare gli IPA (Idrocarburi Policiclici Aromatici) in aerobiosi. Era la seconda volta che si adottava questo intervento, poiché le analisi relative alla prima applicazione, nella Darsena Sud di Porto Marghera (Citron Marta A.A. 2002/2003) avevano offerto dati discordanti, spiegati poi con la forte presenza di fattori di disturbo legati alle correnti ed al traffico navale. Si è scelta pertanto la zona dell'Arsenale poiché area conterminata e sottoposta ad un traffico navale inferiore. I dati offerti dalle analisi fatte a ridosso dell'intervento ne hanno confermato l'efficacia, essendo state le concentrazioni di IPA subito dopo il trattamento inferiori a quelle precedenti.

Lo scopo di questo lavoro è verificare se l'efficacia è persistita nel tempo, ovvero che la comunità microbica aerobica si sia mantenuta attiva nella degradazione degli IPA, attraverso una verifica comparativa delle concentrazioni di questi inquinanti di campioni provenienti dalla zona trattata, con una adiacente, non trattata, che è la Darsena delle Galeazze. Minori concentrazioni della zona trattata rispetto a quella non trattata dimostreranno una persistenza nel tempo degli effetti dell'intervento.

Per offrire quindi una più dettagliata stima dal punto di vista ambientale i dati subiranno due tipi di elaborazione.

Nella prima elaborazione verranno convertiti in tossicità equivalenti per poter stimare la pericolosità che i maggiori metodi di valutazione di rischio ambientale e sanitario associato agli IPA gli attribuiscono.

Nella seconda elaborazione verranno rapportate le concentrazioni di alcuni degli IPA identificati, secondo criteri che consentono l'identificazione della tipologia di sorgente di contaminazione (sversamento di petrolio, combustione di carbone, combustione di derivati del petrolio ecc.) così da comprendere quale sia la fonte maggioritaria e su cosa sia eventualmente necessario effettuare una politica di gestione e controllo.

Nei capitoli successivi verranno presentati gli IPA, per le loro caratteristiche fisiche, chimiche, tossicologiche, fonti e meccanismo di cancerogenesi. Verrà poi discussa la loro suscettibilità alla loro degradazione microbica. Finita l'esposizione sugli IPA, si discuterà della situazione nazionale e internazionale in materia di gestione dei sedimenti contaminati, e, nello specifico, della situazione della Laguna di Venezia che richiede una legge speciale. Si discuterà quindi del metodo di lavoro e verranno presentati, elaborati e spiegati i dati.

3. IDROCARBURI POLICICLICI AROMATICI

Si definiscono Idrocarburi Policiclici Aromatici (IPA) composti di idrogeno e carbonio organizzati in strutture di due o più anelli benzenici fusi assieme. Si presentano come solidi incolori, bianchi o giallo pallidi, con basse solubilità in acqua, elevati coefficienti ottanolo/acqua (K_{ow}), punti di fusione ed ebollizione elevati e basse pressioni di vapore. Con l'aumento del peso molecolare la loro solubilità in acqua e pressione di vapore decrescono, mentre si innalzano i punti di fusione e ebollizione (Tabella 3.1). Hanno acquisito grande importanza, per via della loro ubiquità, resistenza alla biodegradazione, tendenza al bioaccumulo e comprovate proprietà tossiche e attività cancerogena (Haritash e Kaushik, 2009). Date queste proprietà fisico-chimiche in ambiente tendono ad adsorbirsi sul particolato, quindi in una fase dove la loro degradazione chimica biologica e fotochimica è resa più difficile dalla ridotta esposizione agli agenti esterni. In contesto fisiologico vengono facilmente assorbiti nel tratto gastrointestinale dei mammiferi, per poi essere distribuiti nei tessuti, con una particolare tendenza a legarsi al grasso corporeo. (IARC, 2010 e riferimenti all'interno). Negli animali sono gli stessi processi di detossificazione tesi a degradarli in composti solubili e rimovibili a generare derivati ossidati degli IPA in grado di legarsi alla molecola di DNA e quindi provocare danni genetici con possibile cancerogenesi (Philips, 1999 e riferimenti all'interno).

Tabella 3.1: Proprietà chimico-fisiche dei 16 IPA prioritari per US EPA

Nome	Peso Molecolare	Num. anelli	Punto di fusione (°C)	Punto di ebollizione (°C)	Solubilità a 25°C (mg/L)	Log K_{ow}	Pressione di vapore a 25°C (Pa)	Costante di Henry a 25°C (Pa m ³ /mol)	
IPA leggeri (LMW PAHs)	Naftalene	128.2	2	80	218	3.17·10 ⁴	3.40	1.04·10 ¹	4.89·10 ⁻²
	Acenaftilene	152.2	3	92	–	–	4.07	0.89	114·10 ⁻³
	Acenaftene	154.2	3	95	279	3.90	3.92	0.29	18.5
	Fluorene	166.2	3	116	295	1.68	4.18	0.08	9.81
	Antracene	178.2	3	216	342	4.36·10 ⁻²	4.45	0.80·10 ⁻³	5.64
	Fenantrene	178.2	3	100	340	9.77·10 ⁻¹	4.57	0.16·10 ⁻¹	4.29
IPA pesanti (HMW PAHs)	Fluorantene	202.3	4	110	384	0.26	5.20	0.12·10 ⁻²	1.96
	Pirene	202.3	4	151	404	1.35·10 ⁻¹	5.18	0.60·10 ⁻³	1.71
	Benzo[a]Antracene	228.3	4	160	–	0.90·10 ⁻²	5.91	2.80·10 ⁻⁵	1.22
	Crisene	228.3	4	254	448	0.20·10 ⁻²	5.79	–	0.53
	Benzo[a]Pirene	252.3	5	179	311	0.38·10 ⁻²	6.35	–	0.34·10 ⁻¹
	Benzo[b]Fluorantene	252.3	5	168	–	0.15·10 ⁻²	5.78	–	0.51·10 ⁻¹
	Benzo[k]Fluorantene	252.3	5	217	480	0.80·10 ⁻³	6.11	–	0.44·10 ⁻¹
	Benzo[g,h,i]Perilene	276.3	6	278	–	0.26·10 ⁻³	6.90	–	0.27·10 ⁻¹
	Indeno[1,2,3-c,d]Pirene	276.3	6	164	–	0.19·10 ⁻³	–	–	0.29·10 ⁻¹
	Dibenzo[a,h]Antracene	278.4	5	266	–	0.50·10 ⁻³	6.75	–	–

Fonti: IARC, 2010; IPCS, 1998.

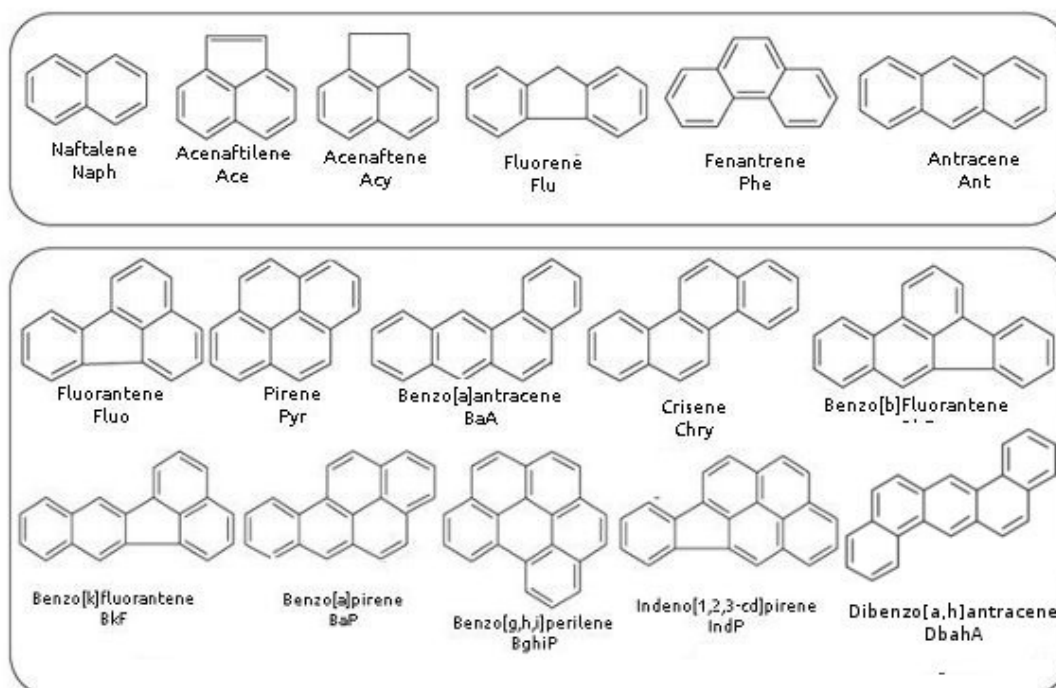


Immagine 3.1 Formule di struttura dei 16 IPA prioritari US EPA. Nel primo riquadro sono riportati gli IPA leggeri, nel secondo i pesanti. Sotto il nome, le abbreviazioni che verranno usate.

3.1 Fonti di IPA in ambiente

Le fonti di IPA in ambiente sono sia naturali che antropiche. Fonti naturali sono incendi di foreste e praterie, eruzioni, fuoriuscite di petrolio e essudati degli alberi. Alcuni autori sostengono che gli IPA vengano sintetizzati direttamente da alghe unicellulari, batteri e piante superiori (Chaulan et al., 2008 e riferimenti all'interno). Altri ancora sostengono che invece si tratti di accumulo nei tessuti piuttosto che sintesi. Questa teoria è tutt'ora controversa (Magi et al. 2001 e riferimenti all'interno). Allo stato attuale, le fonti maggioritarie sono comunque quelle antropiche.

Gli IPA di origine antropica che vengono rilasciati in ambiente da processi industriali possono essere divisi in tre categorie:

1. Sottoprodotti da **pirolisi**, che sono accidentali e non voluti;
2. **Prodotti finali** del processo che poi vengono commerciati (ad esempio naftalene, acenaftene, antracene, fenantrene, fluorantene, pirene);
3. **Intermedi di reazione** all'interno del processo di sintesi, soprattutto in produzione di plastificanti, coloranti, pigmenti. Di queste tre categorie la prima è considerata la maggioritaria, in quanto si tratta di un rilascio in ambiente continuo e intrinseco processo. Le altre due comportano rilascio di IPA in ambiente solo in seguito a eventi accidentali. Solo il naftalene è usato commercialmente senza essere processato, nella forma di naftalina (repellente per tarne) e viene quindi immesso intenzionalmente nel comparto ambientale.

Le fonti più importanti di IPA finora riconosciute sono le seguenti (IPCS, 1998)

3.1.1 Idrocarburi come sottoprodotti

1. Produzione di coke da carbone minerale. Si ritiene che si sia molto ridotta in seguito all'ammodernamento degli impianti nell'ultimo ventennio;
2. Lavorazione di petrolio, ad esempio raffinazione e gasificazione;
3. Produzione di alluminio, ferro e acciaio nelle fonderie;
4. Riscaldamento di edifici industriali e residenziali: fenantrene, fluorantene, pirene e crisene sono i composti maggiormente prodotti. Le stufe a legna tendono a produrre IPA in quantità 25-1000 volte superiori a quelle funzionanti con combustibili fossili. Diventa una fonte importante soprattutto nei periodi invernali e nei Paesi in via di sviluppo, dove si utilizzano ancora modelli molto rudimentali di stufe a legna;
5. Traffico di veicoli a motore. Gli inquinanti maggiormente emessi dai veicoli alimentati a benzina sono fluorantene e pirene, mentre il naftalene e acenaftene sono tipici dei motori diesel. Le migliori prestazioni ambientali dei nuovi veicoli vengono purtroppo compensate dall'aumento del numero di automobili *pro capite*;
6. Centrali elettriche a carbone: le emissioni consistono perlopiù in composti a due o tre anelli;
7. Incenerimento di rifiuti solidi urbani;
8. Uso di tabacco. Rilevante soprattutto per la contaminazione degli ambienti interni. Va tenuto conto che il fumo passivo è più pericoloso di quello attivo (IARC, 2010);
9. Fuoriuscite di petrolio.

3.1.2 IPA come prodotti commerciali

1. Naftalene: è principalmente usato nella produzione di plastificanti del policloruro di vinile (PVC), coloranti azoici, surfattanti, disperdenti, concianti, solventi e l'insetticida cabaryl. È direttamente usato come repellente per tarme (naftalina);
2. Acenaftene: principalmente usato come una delle materie prime nella produzione di pigmenti e resine;
3. Fluorene: produzione di fluorenone (leggero agente ossidante);
4. Antracene: principalmente usato come una delle materie prime della produzione di coloranti; è anche usato tal quale come scintillante per il rilevamento di radiazioni ad elevata energia;
5. Fenantrene: produzione di pesticidi e resine;
6. Fluorantene: produzione di coloranti fluorescenti e "al tino".

Inoltre, lo spostamento massivo di materiali naturali negli ultimi decenni ha aumentato l'esposizione dei sistemi viventi a questi composti.

3.2 Influenza del processo di formazione e rapporti isomerici

Le miscele di IPA rinvenute in ambiente possono essere divise in tre grandi categorie in base alla loro fonte:

Petrogenesi: formazione di combustibili fossili a partire da sostanza organica sedimentata, a temperature relativamente basse (100-300°C) e in tempi geologici. Si tratta di miscele complesse abbondanti in IPA leggeri ed alchilati;

Pirogenesi: gli IPA sono prodotti da processi di combustione incompleta (pirolisi e piro-sintesi) di materiale organico ad elevate temperature (500-800°C), antropici e naturali. Gli IPA pesanti sono generalmente in maggioranza rispetto a quelli leggeri e alchilati;

Diagenesi: trasformazione della sostanza organica in contesto sedimentario. Le temperature (massimo 200°C) e le pressioni (massimo 2-3 bar) sono più basse rispetto a quelle dei processi di petrogenesi. La diagenesi è quindi considerata un processo sedimentario al limite col metamorfismo, in cui la sostanza organica è trasformata in bitume e cherogeni. Nello specifico, quando la degradazione prosegue fino alla formazione di IPA a partire da cherogeni, si parla di **catagenesi**. Le miscele di IPA da diagenesi sono meno complesse rispetto a quelle da altre fonti.

Nota: per pirolisi si intende il processo di combustione incompleta per cui una molecola organica viene scissa, per piro-sintesi invece quello per cui due o più molecole vengono fuse assieme. Sono processi che coesistono nello stesso fenomeno di combustione e molto difficili da distinguere a livello macroscopico (Pavoni, A.A. 2010/2011). In molte pubblicazioni concernenti l'inquinamento da IPA, però, il termine di pirolisi è usato per identificare contemporaneamente i processi di scissione e fusione. In questo contesto è parso più rigoroso l'uso del termine pirogenesi per intendere complessivamente la produzione di IPA da combustione incompleta.

Sebbene facciano parte degli inquinanti prioritari dell'atmosfera, tendono ad accumularsi maggiormente in suoli e sedimenti. Ciò è dovuto alla loro idrofobicità e forte affinità con il particolato organico. L'accumulo è ancora più marcato in sedimenti a granulometria fine, che data l'elevata superficie specifica, hanno elevate capacità di assorbimento. La deposizione del particolato attraverso l'interfaccia aria-acqua, specialmente delle particelle *fast sinking*, è ritenuto il principale mezzo di contaminazione degli ambienti marini. Gli ambienti marini sono contaminati da IPA petrogenici in seguito a perdite da trasporto di petrolio, estrazione *off-shore* e rilasci naturali. Carote di sedimento possono essere utilizzate per la ricostruzione storica dei processi di deposizione dei contaminanti. Per garantire dati significativi, questi sedimenti devono essere però, indisturbati, a granulometria fine e situati in aree con tassi di sedimentazione elevati (Yim et al. 2005). Alcuni autori sostengono che per porre una correlazione fra tipologia di matrice sedimentaria e concentrazione di IPA sia necessario tenere in considerazione anche il processo sedimentario in corso e non la sola granulometria, pertanto la correlazione fra granulometria e concentrazione di IPA dovrebbe essere più complessa di quanto detto finora (Magi et al., 2001 e riferimenti all'interno).

Il loro destino chimico nel comparto ambientale prevede volatilizzazione, foto-ossidazione, ossidazione chimica, adsorbimento sulle particelle di suolo, lisciviazione e degradazione microbica. Quest'ultimo processo sembra essere quello più efficace (Samanta et al. 2002). Tuttavia l'ubiquità degli IPA nei sedimenti indica che allo stato attuale i processi di accumulo prevalgono su quelli degradativi (Soclo et al. 2000).

Gli IPA pirogenici sono più pericolosi rispetto a quelli petrogenici, per una serie di motivi:

- Mentre i rilasci di combustibili fossili in ambiente sono generalmente accidentali,

fortuiti, e spazialmente puntiformi, la produzione di IPA da combustione incompleta è invece sistematica, spazialmente e temporalmente estesa. Perciò per gli ambienti marini la fonte pirolitica è quella prioritaria (Yim et al. 2005);

- Gli IPA pirolitici sono più pesanti, e gli IPA pesanti sono intrinsecamente più resistenti alla degradazione chimica, fotochimica e microbica, persistono nell'ambiente per periodi più lunghi ed aumentano le possibilità di ingresso nella catena alimentare (Kanaly and Harayama, 2000; Juhasz and Naidu, 2000);
- Fermo restando che tutti gli IPA sono apolari e tendono ad adsorbirsi sul particolato, questa caratteristica è ancora più marcata per gli IPA pesanti. Le particelle su cui si adsorbono forniscono quindi protezione agli agenti degradativi che si aggiunge alla recalcitranza intrinseca degli IPA. Nel contesto poi delle combustioni si produce fuliggine, un particolato nero che fornisce elevata protezione agli IPA adsorbiti (Yunker et al., 2001e riferimenti all'interno);

Come verrà discusso in seguito, sono gli IPA pesanti quelli con la più marcata attività cancerogena. Lo studio epidemiologico delle sostanze cancerogene rispetto a quelle tossiche è molto più complesso.

Come già accennato, la fonte delle miscele di IPA presenti in ambiente può essere dedotta attraverso il calcolo di rapporti fra le abbondanze di specifici composti o gruppi di composti (Soclo et al., 2000). Questi strumenti sono detti **fingerprints**. Oppure **rapporti isomerici** (*isomeric ratios*) quando il rapporto è dato dalle abbondanze di due isomeri. Il principio del metodo è quello di mettere a confronto le quantità di composti che è noto si formino rispettivamente in condizioni di petrogenesi e pirogenesi. Ad esempio, noto che gli IPA pesanti si formano prevalentemente per piro-sintesi, il rapporto degli IPA leggeri rispetto a quelli pesanti (LMW/HMW, *Low Molecular Weight Polycyclic Aromatic Hydrocarbons su High Molecular Weight Polycyclic Aromatic Hydrocarbons*,) inferiore ad 1, indica una fonte pirogenica della contaminazione. L'identificazione di composti tipici della diagenesi è più complessa e di minore interesse ambientale, essendo questa fonte meno impattante.






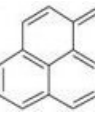


L'utilizzo di rapporti fra isomeri, ovvero composti differenti ma con stessa formula bruta, è preferibile in quanto minimizza i fattori di disturbo come differenze volatilità, solubilità, assorbimento ecc. che possono esserci fra composti di differente peso molecolare (Readman et al., 1987). La base teorica di questo strumento è la differenza fra stabilità termodinamica e cinetica. Ovvero, in sistemi a temperature relativamente basse, come il sottosuolo, gli isomeri che tendono a formarsi sono quelli termodinamicamente stabili, ovvero a più bassa energia. Invece, ad alte temperature si formano isomeri a più elevata energia, meno stabili termodinamicamente, detti isomeri cinetici. Per fare un esempio, per la massa molecolare 178, l'antracene è l'isomero cinetico che si forma per pirogenesi, e il fenantrene l'isomero termodinamico che si forma per petrogenesi. Il rapporto della quantità di antracene sulla quantità complessiva di isomeri della massa 178 (An/178) indica fonte petrogenica se inferiore a 0.10, pirolitica se superiore a 0.10 (Budzinsky et al., 1997).

3.3 Tossicità e cancerogenicità

Test di laboratorio su animali hanno evidenziato che gli IPA esercitano sui mammiferi tossicità riproduttiva, cardiovascolare, al midollo osseo, immunosoppressiva ed epatica.

Tuttavia è sempre stata di maggiore interesse ed importanza la potenzialità cancerogena (Collins et al., 1998).

Gli IPA sono composti cancerogeni poiché genotossici, ovvero la cancerogenesi ha origine da danni provocati alla molecola di DNA. Come si può vedere dalla Tabella 3.2, le proprietà genotossiche sembrano positivamente correlate al peso molecolare.

IPA		PM	Num. anelli	Solubilità a 25°C (mg/L)	Risposta positiva ai test di genotossicità
IPA leggeri (LMW PAHs)	 Naftalene	128.2	2	$3.17 \cdot 10^{-4}$	-
	 Acenaftene	154.2	3	3.90	Ames
	 Antracene	178.2	3	$4.36 \cdot 10^{-2}$	-
	 Fenantrene	178.2	3	$9.77 \cdot 10^{-1}$	-
IPA pesanti (HMW PAHs)	 Fluorantene	202.3	4	0.26	Debole cancerogeno
	 Pirene	202.3	4	$1.35 \cdot 10^{-1}$	Ames, USD, SCE
	 Benzo[a]Antracene	228.3	4	$0.90 \cdot 10^{-2}$	Ames, CA, SCE, Cancerogeno
	 Benzo[a]Pirene	252.3	5	$0.38 \cdot 10^{-2}$	Ames, CA, USD, DA, SCE, Cancerogeno

Legenda: (DA) addotti col DNA, (SCE) scambio dei cromatidi fratelli, (CA) aberrazioni cromosomiche, (Ames) saggio di reversione su *Salmonella typhimurium*, (USD) sintesi di DNA non programmata, (-) non genotossico. **Fonte:** Cerniglia, 1992.

La potenzialità di indurre tumori delle miscele contenenti IPA è conosciuta fin dal 1775, quando il chirurgo britannico Sir Percival Scott dimostrò una correlazione fra l'esposizione alla fuliggine degli spazzacamini e l'incidenza del tumore allo scroto. Le ricerche moderne sulla cancerogenesi indotta dagli IPA iniziarono con l'isolamento, nel 1930, del benzo[a]pirene (BaP) dal catrame di carbone, e la successiva dimostrazione che è in grado di innescare tumori se applicato ripetutamente sulla pelle dei topi (Cook et al. 1933). La relazione fra le interazioni degli IPA con il DNA e il loro potenziale cancerogeno è stata scoperta da Brookers e Lawley (1964). Loro dimostrarono la correlazione positiva tra la frequenza di formazione di legami fra DNA e IPA nella pelle dei topi e la formazione di

tumori sulla stessa. Allora nacque l'ipotesi che gli IPA siano trasformati nell'ambiente cellulare in derivati maggiormente reattivi che possono legarsi alla molecola di DNA e causare errori nella trascrizione e replicazione della molecola. Questo però non è l'unico meccanismo all'interno dell'induzione dei tumori da parte degli IPA. È consolidato che si tratti, per la maggior parte dei composti, di **cancerogeni completi**, cioè in grado non solo di causare le mutazioni (**iniziazione**) ma anche creare indurre le condizioni che rendono le cellule mutate cancerose, e che ne incentivano la proliferazione in una massa tumorale (**promozione**). Nel caso di cancerogeni completi è tuttavia molto difficile studiare il processo di promozione separatamente da quello di iniziazione. (Baird et al. 2005). Inoltre gli IPA si presentano più frequentemente in miscele dove si possono avere fenomeni di sinergismo, per cui l'effetto della miscela è superiore alla somma degli effetti dei singoli composti. Per questo il processo complessivo di cancerogenesi degli IPA non è ancora del tutto noto.

Si può generalmente affermare che gli IPA a basso peso molecolare, al di sotto dei quattro anelli aromatici (*Low Molecular Weight Polycyclic Aromatic Hydrocarbons*, **LWM PAHs**) sono caratterizzati da pronunciata tossicità acuta. Gli IPA pesanti, da quattro anelli aromatici in su (*High Molecular Weight Polycyclic Aromatic Hydrocarbons*, **HMW PAHs**) sono invece scarsamente tossici, ma manifestano effetti cancerogeni per esposizioni prolungate (Boscolo et al., 2007 e riferimenti all'interno).

Ciò è dovuto alla conformazione degli IPA pesanti, che nel corso del metabolismo cellulare, come verrà discusso in seguito, può comportare la formazione di composti genotossici, ma anche alla loro maggiore resistenza alla degradazione nell'ambiente e nell'organismo.

3.3.1 Vie di assimilazione degli IPA

Gli IPA sono composti fortemente lipofili e sono rapidamente trasportati per diffusione attraverso le membrane lipidiche e lipoproteiche delle cellule dei mammiferi, accumulandosi in tutti i tessuti, con una certa preferenza per quelli adiposi.

Negli esseri umani, le principali vie di assimilazione degli IPA sono:

1. Attraverso il **tratto respiratorio** e i **polmoni** in seguito ad inalazione di aerosol contenenti IPA, o di particolato carbonioso sulla cui superficie sono stati assorbiti IPA. Gli IPA che tendono ad adsorbirsi su particelle sono quelli più pesanti, quindi generalmente quelli pirogenici. La particella inoltre fornisce una protezione fisica degli IPA dagli agenti degradativi ambientali (Yunker, 2001 e riferimenti all'interno).

È stato inoltre rilevato da esperimenti su ratti che le particelle carboniose hanno potenziale cancerogeno anche senza avere sostanze genotossiche adsorbite sulla loro superficie.

L'assorbimento lungo il tratto respiratorio degli IPA associati al particolato è legato principalmente alla dimensione della particella (che determina la sua capacità di penetrazione nell'apparato respiratorio) e il tasso di desorbimento degli IPA dalla particella (IPCS, 1998).

2. Attraverso il **tratto gastrointestinale** in seguito all'ingestione.
3. Attraverso la **pelle** come risultato di un contatto con materiali contenenti IPA, di cibo o acqua contaminati.

Per persone non professionalmente esposte (ad esempio lavoratori nell'industria dell'alluminio) e non fumatrici, gli idrocarburi assimilati arrivano per il 70% dalla dieta, specie da cereali e cibo grigliato. Fatta eccezione per il consumo abituale di cibo grigliato, la contaminazione di IPA del cibo è quindi riconducibile ad una fonte ambientale (Philips, 1999).

Inoltre negli esperimenti sui ratti esposti ad IPA il tratto gastrointestinale è risultato ricco di metaboliti degli IPA, rimossi dai tessuti attraverso le mucose o le escrezioni epatobiliari. Generalmente si può affermare che la lipofilità accresce con il peso molecolare. Un'elevata lipofilità determina anche una scarsa mobilità, per cui gli IPA a due o tre anelli sono assorbiti più rapidamente ed ampiamente di quelli a cinque o sei. La maggioranza degli IPA con una potenziale attività carcinogena sono però quelli pesanti. La bassa mobilità degli IPA molto lipofili ne rende purtroppo molto complesse le cinetiche tossiche. I consueti modelli di ripartizione organo-flusso sanguigno, per cui una sostanza tende a raggiungere un equilibrio di ripartizione fra il flusso sanguigno e i tessuti che ne sono irrorati, non possono essere applicati per gli IPA. La bassa mobilità comporta un ritardo, per cui gli IPA non raggiungono l'equilibrio di ripartizione prima che il sangue esca dal tessuto. Dato questo ritardo nel raggiungimento dell'equilibrio, può non esserci un rilevante accumulo di IPA pesanti nei tessuti per esposizioni acute e brevi, mentre, in seguito ad esposizione prolungata, i tessuti, soprattutto quelli adiposi, possono mantenere concentrazioni elevate di IPA anche molto tempo dopo che l'esposizione è finita oppure si è drasticamente abbassata e rilasciarli nuovamente nell'organismo nel lungo periodo (IARC, 2010).

3.3.2 Meccanismo di attivazione

Gli IPA, come la maggior parte dei cancerogeni conosciuti, sono **cancerogeni secondari o procancerogeni**, ovvero non sono biologicamente attivi in sé ma lo possono essere i derivati in cui vengono convertiti nel corso del metabolismo cellulare. Il metabolismo cellulare degli IPA è volto trasformarli in composti ossidati maggiormente idrosolubili che possono essere espulsi più facilmente attraverso urine e feci. La biotrasformazione nei mammiferi avviene in diversi organi, principalmente fegato, seguito da polmoni, intestino, cute e reni. Alcuni dei metaboliti generati possono avere una configurazione tale da legarsi alla molecola di DNA formando addotti. Quindi è lo stesso meccanismo di detossificazione a generare i cancerogeni. Questo evento è detto **attivazione**.

Nel processo di metabolizzazione è importante sottolineare che possono scaturirne derivati genotossici, quando gli IPA di partenza presentano la regione baia o fiordo. La **regione baia** (*bay region*), maggiormente studiata, è un'indentatura topologica nella molecola di IPA, che coinvolge quattro carboni e tre legami carbonio-carbonio, il fenantrene è l'IPA più leggero a presentare una regione baia, e il Benzo[a]pirene (BaP) presenta regione baia. La sua responsabilità nella generazione di derivati genotossici è conosciuta fin dagli anni '70 (Wood et al., 1976).

Esiste inoltre la **regione fiordo** (*fjord region*), un'indentatura che coinvolge cinque carboni e quattro legami carbonio-carbonio. Il Dibenzo[a,l]pirene presenta regione fiordo ed è considerato l'IPA più cancerogeno presente in ambiente (IARC, 2010). Gli IPA con regione a fiordo sono tuttavia rari e non sono stati inclusi fra gli inquinanti prioritari US EPA.

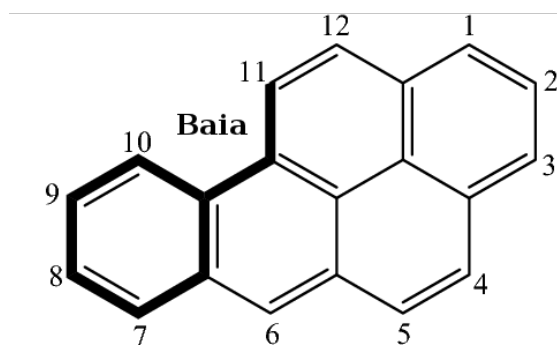


Immagine 3.2 Esempio di regione baia nel Benzo[a]pirene.

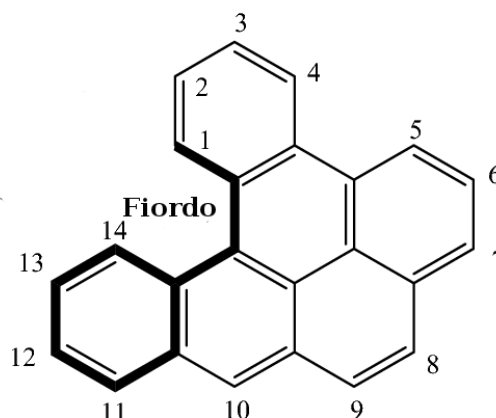


Immagine 3.3 Esempio di regione fiordo nel Dibenzo[a,h]pirene.

Enzimi particolarmente studiati nel metabolismo degli IPA sono i **citocromi P450 (CYPs)**. Si tratta di una superfamiglia di emoproteine, appartenente alla sottoclasse enzimatica delle **monossigenasi**, coinvolta nel metabolismo delle droghe, steroidi e composti xenobiotici. Di questi, i CYP1A1 e i CYP1A2 sono fra gli enzimi più importanti nell'attivazione metabolica degli IPA. Queste monossigenasi convertono gli IPA, lipofili e chimicamente inerti, in composti reattivi ed elettrofili che possono coniugarsi ed essere espulsi dalla cellula.

Si tratta di enzimi substrato-inducibili, ovvero la cui produzione risponde attivamente alla presenza o meno di IPA, ed altri composti xenobiotici nell'ambiente cellulare. Alla base dell'induzione sta **recettore aril idrocarburo (AHR)**. Questo recettore citoplasmatico si lega agli idrocarburi in ingresso, più efficientemente a quelli planari come il BaP, in seguito dimerizza con *il traslocatore nucleare aril idrocarburo (ARNT)*, ed il nuovo composto entra nel nucleo per interagire coi geni contenenti l'elemento di **risposta xenobiotica (XRE)** e indurre, in questo caso, la produzione di CYPs.

Di seguito è spiegata sinteticamente la metabolizzazione degli IPA ad opera dei citocromi. Questo modello è stato sviluppato principalmente sugli studi fatti sul metabolismo del benzo[a]pirene, fornito di regione baia, essendo questo il composto su cui si è prodotta la maggiore quantità di letteratura. Si ritiene comunque che i passaggi elencati siano comuni al metabolismo degli IPA in genere, soprattutto di quelli pesanti. Si può preliminarmente distinguere il processo in una fase di **ossidazione** dei composti, **fase I**, e una fase di **coniugazione** dei derivati a substrati endogeni per generare composti non tossici, fase II o anche fase di detossificazione (Immagine 3.4).

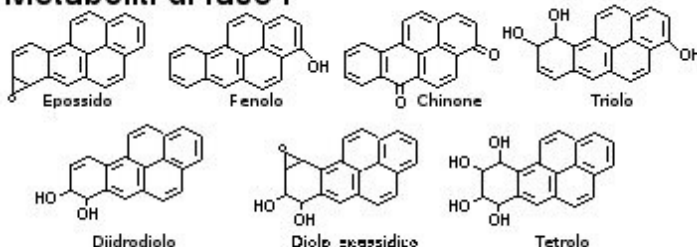
Fase I

1. I citocromi epossidano uno dei doppi legami dell'IPA oggetto di degradazione; gli epossidi prodotti possono essere idratati dall'enzima *eossido idrolasi (EH)* a diidrodiooli, oppure riarrangiarsi spontaneamente a fenoli.
2. I diidrodiooli possono essere nuovamente attaccati dai citocromi per formare dioli epossidici. La EH può ulteriormente degradarli a tetrol.
3. Le monossigenasi catalizzano anche le ossidazioni in fenoli, ossidi e chinoni.

Fase II

Questi derivati idrossilati, detti metaboliti di fase I, vengono coniugati ad altre molecole organiche, fra cui glutazione (per mediazione dell'enzima *glutathione-S-transferasi*, GST), solfati esteri (*sulfotransferasi*) e acido glucuronico (*UDP-Glucuronil-transferasi*, UGT), per formare metaboliti di fase II, idrosolubili e non tossici, che sono espulsi attraverso urine e feci.

Metaboliti di fase I



Metaboliti di fase II

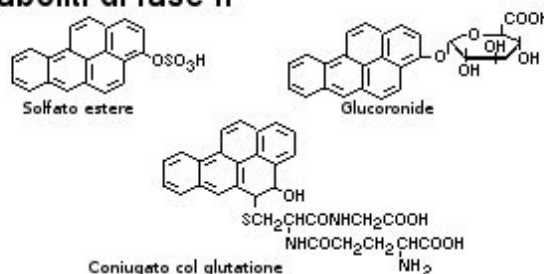


Immagine 3.4 Alcuni dei metaboliti di fase I e metaboliti di fase II prodotti nel metabolismo del BaP. **Fonte:** IPCS, 1998.

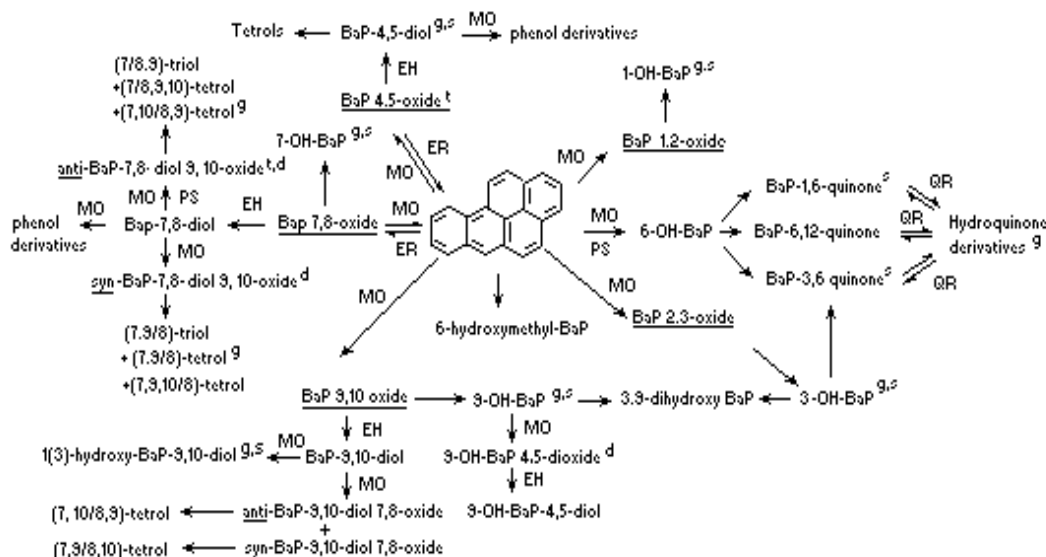


Immagine 3.5 Reazioni e vie metaboliche nel metabolismo del BaP nell'uomo. Le sigle indicano gli enzimi coinvolti. **EH:** Epossido Idrolasi; **ER:** Eossido Reduttasi; **MO:** monossigansi (CYPS); **PS:** Prostaglandin endoeossido sintetasi; **QR:** chinone reduttasi. Coniugazioni finali: **a:** Coniugazione con glutazione; **b:** Coniugazione con solfati esteri; **c:** Coniugazione con acido glucuronico; **d:** Reazione covalente con acidi nucleici. **Fonte:** IPCS, 1998

I diidrodiole possono però essere nuovamente attaccati dai citocromi per formare dioli

epossidici, che vengono sempre legati a glutazione, solfati e acido glucuronico per essere espulsi, oppure essere ulteriormente degradati dalla EH a tetrololi.

Si tratta comunque di composti fortemente elettrofili, e se queste reazioni si verificano nella regione baia, o fiordo, alcuni degli isomeri che possono generarsi hanno la potenzialità di legarsi alla molecola di DNA, fortemente nucleofila, attraverso un'addizione, sia *cis* che *trans*, al **gruppo aminico esociclico** delle **purine**. All'interno della molecola del DNA questo può portare a rimozione della base azotata con formazione di un sito abasico (solo zucchero e fosfato) o all'inglobamento di un ingombrante residuo idrocarburico. Ciò comporta il fenomeno di **frameshift**, ovvero l'addizione o rimozione di un numero di basi azotate non divisibili per tre, per cui l'intera sequenza di lettura dopo tale mutazione viene alterata, con probabili effetti mutageni e cancerogeni. La capacità di questi addotti di persistere e dare mutazioni dipende dalla loro conformazione e la capacità degli enzimi riparatori di identificare la lesione.

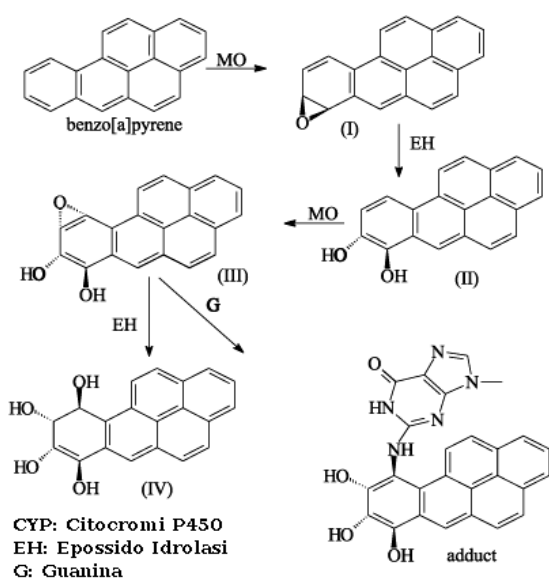


Immagine 3.6 Schema di produzione di addotti fra DNA e metaboliti di IPA. In questo caso il diolo epossidico derivante dal BaP, invece che essere degradato dalla epossido idrolasi a tetrolo, si lega alla guanina della catena di DNA.

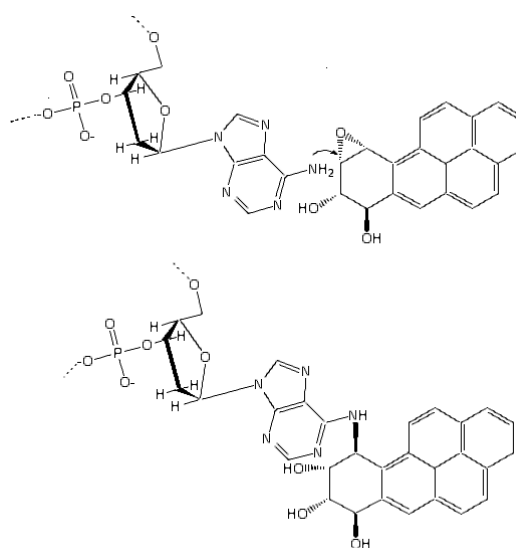


Immagine 3.7 Formazione di un addotto BaP-Adenina. L'immagine ricostruisce la tridimensionalità del processo.

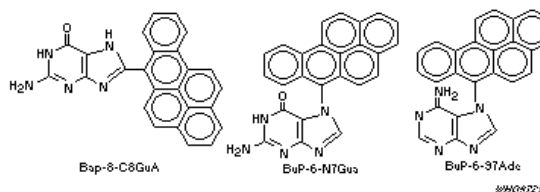


Immagine 3.8 Addotti del BaP in posizione 6, con le posizioni C8 e N7 della guanina e la N7 della adenina. Fonte: IPCS, 1998

I dioli epossidici possono legarsi ad altre molecole nucleofile, ovvero le proteine citoplasmatiche. Potrebbe trattarsi di un fenomeno rilevante sul piano della tossicità e cancerogenesi, però non è stato ampiamente studiato, in parte per l'evidente priorità della formazione di addotti con la molecola di DNA, in parte perché si tratterebbe di uno studio molto complesso, essendo le proteine una categoria di molecole estremamente variegata,

ed essendo la molecola stessa spazialmente disomogenea, fornita di differenti siti reattivi con diversa carica, mentre la molecola di DNA è nucleofila in tutta la sua lunghezza (IPCS, 1998).

Inoltre è difficile stimare questi aspetti della cancerogenesi, più complessi, in ambiente di laboratorio, in quanto i sistemi metabolici variano da specie a specie e frequentemente gli animali per i test vengono scelti per convenienza economica piuttosto che per similarità dei processi di detossificazione a quelli umani.

3.3.2.1 Cancerogenicità del Benzo[a]pirene

Come si è già detto, il BaP è il composto su cui si è prodotta la maggiore quantità di letteratura e di cui sono più noti i processi metabolici. Questa grande attenzione deriva dalla sua elevata attività cancerogena rispetto al resto degli IPA. Questa elevata attività, secondo le teorie attuali, è dovuta ad un'elevata affinità del BaP con la molecola del DNA. L'elevata affinità è a sua volta dovuta dalla tendenza dei dioli epossidici del BaP a formare addotti col DNA a basso ingombro sterico, che quindi vengono inglobati con più facilità dentro la doppia elica.

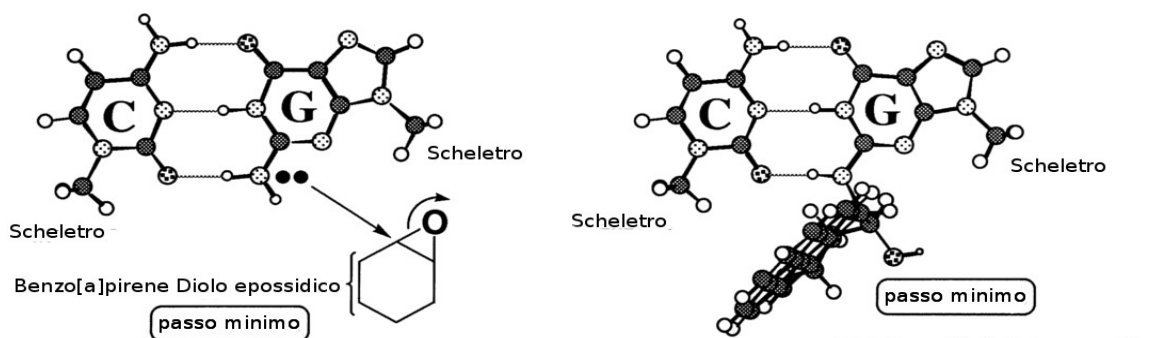


Immagine 3.9: Formazione del legame fra il diolo epossidico del BaP e l'azoto N2 della guanina. **Fonte:** Okajima et al., 2002.

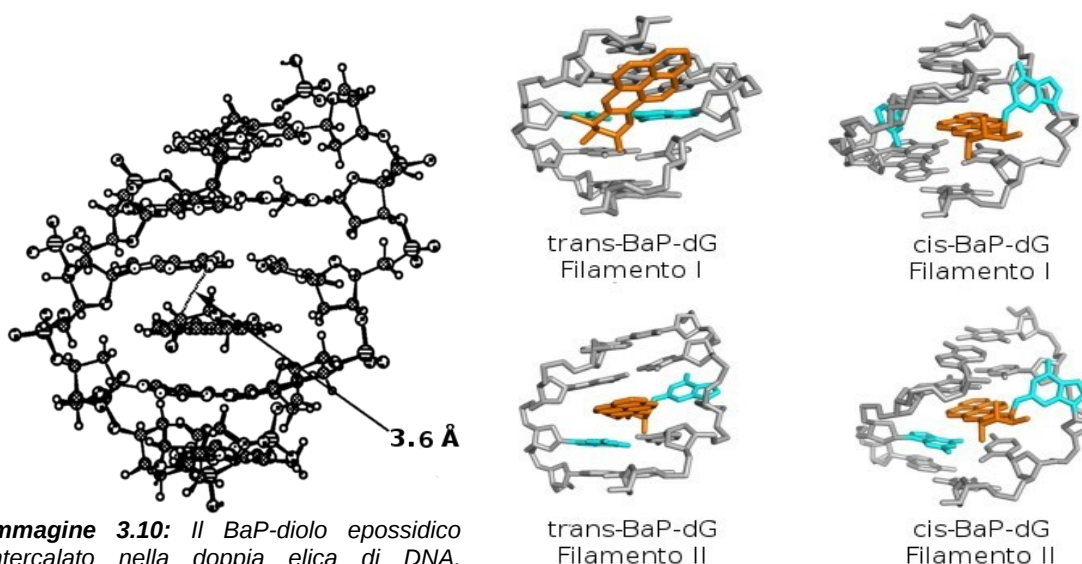


Immagine 3.10: Il BaP-diolo epossidico intercalato nella doppia elica di DNA, generando distorsione della molecola. **Fonte:** Okajima et al., 2002

Immagine 3.11: Conformazioni spaziali dei metaboliti del BaP all'interno della doppia elica di DNA e relativi effetti di distorsione e separazione delle basi. **Fonte:** Liu et al. 2011

Nella fattispecie, è stato dimostrato (Okajima et al, 2002, e riferimenti all'interno) che

l'azoto N2 della guanina tende a formare con il gruppo epossidico del diolo epossidico del BaP un legame di 3.6 Å, lunghezza che consente al diolo epossidico di intercalarsi perfettamente fra due coppie di basi all'interno del passo minimo della doppia elica di DNA (Immagini 3.9, 3.10, 3.11). Ciò ha come conseguenze la distorsione del filamento e la separazione della coppia di basi in cui si è formato l'addotto, e ciò può generare la mutazione puntiforme. Fra i diversi tipi di cellule, i macrofagi sembrano quelli più attivi nella metabolizzazione del benzo[a]pirene. (Baird, 2005 e riferimenti all'interno)

3.4 Valutazione della cancerogenicità

La classificazione degli IPA in base al rischio che essi presentano per ambiente e salute è difficoltosa e tutt'ora allo stato di ricerca. I motivi di tali difficoltà sono ben chiari: le contaminazioni ambientali non riguardano mai un singolo IPA ma miscele, dove hanno luogo effetti sinergici; in secondo luogo, gli IPA sono cancerogeni secondari, per cui manifestano attività cancerogena se la metabolizzazione porta alla formazione di particolari stereoisomeri. Gli enti più autorevoli riguardo lo studio di inquinanti e cancerogeni ambientali, la IARC (*International Agency for Research on Cancer*) e la US EPA (*United States Environmental Protection Agency*) hanno pubblicato rispettive tabelle di classificazione degli IPA, sviluppate su valutazioni di rischio a partire da grandi quantità di dati sperimentali.

La IARC e la US EPA suddividono i composti e le miscele di inquinanti in gruppi concettualmente simili, entrambi basati sull'evidenza statistica di effetti avversi alla salute:

Gruppo 1 IARC, Gruppo A US EPA: Composti e miscele cancerogeni per l'uomo. Rientrano in questo gruppo composti e miscele per cui è stata provata una *sufficiente evidenza* di attività cancerogena negli esseri umani e in animali da laboratorio. Da notare che questo gruppo contiene quasi unicamente miscele (catrame, catrame di carbone, scorie di produzione di coke, oli minerali, oli di scisto, ceneri e fumo di tabacco). L'unico inquinante singolo è il Benzo[a]Pirene, inserito nel Gruppo 1 IARC solo nel 2012.

Gruppo 2A IARC, Gruppo B1 US EPA: Composti e miscele probabilmente cancerogeni per l'uomo. Utilizzato per composti e miscele per cui è stata valutata una *limitata evidenza* di cancerogenicità degli esseri umani, ma *sufficiente* per gli animali da laboratorio che hanno vie metaboliche simili a quelle umane. Le condizioni di esposizione sono determinanti.

Gruppo 2B IARC, Gruppo B2 US EPA: composti e miscele possibilmente cancerogeni per l'uomo. Usato per composti dove vi è una *limitata evidenza* di cancerogenicità negli esseri umani e una *evidenza non sufficiente* negli animali. Possono esserci evidenze differenti che contribuiscono alla stima della posizione dei gruppi, che comunque forniscono valori inferiori a quelli del gruppo 2A.

Gruppo 3 IARC, Gruppo D US EPA: composti e miscele non classificabili in base alla loro cancerogenicità negli esseri umani. Adottato per composti dove c'è un'*inadeguata* (scarsità o bassa qualità dei dati) o *limitata evidenza* di cancerogenicità in esseri umani e animali da laboratorio. Oppure dove sono stati usati animali da laboratorio con vie metaboliche troppo differenti da quelle umane.

Gruppo 4 IARC, Gruppo C US EPA: composti e miscele probabilmente non cancerogeni per l'uomo. Vi rientrano composti e miscele dove i dati hanno fornito una *possibile assenza* di cancerogenicità per gli esseri umani.

Importante notare che se un composto non è stato assegnato a nessuno dei due sistemi di classificazione, ciò non significa che non abbia potenziale attività cancerogena. Lo spazio vuoto significa solamente che non vi è ancora stata fatta la valutazione di rischio, probabilmente per una scarsità di dati e studi su quel composto.

Come si può notare dalla Tabella 3.3 tutti i possibili, probabili e certi cancerogeni appartengono agli IPA pesanti, mentre nessuno degli IPA in elenco è stato classificato come probabile non cancerogeno.

Oltre alle classificazioni US EPA IRIS (*US EPA Integrated Risk Information System*) e IARC, diversi studi sono stati pubblicati sulla valutazione della potenziale attività cancerogena e tossicità degli IPA in base all'assegnazione di fattori di equivalenza.

In tossicologia si rende necessario stimare la tossicità di una serie di composti appartenenti alla stessa categoria in unità specifiche che li rendano paragonabili fra di loro per questa proprietà. Uno dei metodi in uso è adottare uno dei composti presenti in tale categoria come composto di riferimento, assegnandogli un fattore di equivalenza unitario, ed esprimere la tossicità degli altri composti in rapporto a quello di riferimento. Si hanno quindi tre grandezze: *C*, la concentrazione effettiva del composto in analisi; **TEQ** (*Toxic Equivalent*), la tossicità equivalente, ovvero la concentrazione che dovrebbe avere il composto di riferimento per esprimere lo stesso effetto avverso del composto in analisi, e **TEF** (*Toxic Equivalent Factor*), valore adimensionale che rapporta la concentrazione effettiva del composto alla concentrazione equivalente.

$$\frac{TEQ}{C} = TEF$$

Per diossine e furani l'uso dei fattori di equivalenza tossica è divenuto la norma. Il composto di riferimento, con fattore di equivalenza pari ad uno è la TCDD, 2,3,7,8-tetraclorodibenzo-*p*-diossina.

La prima esaustiva serie di TEF specifici per gli IPA è stata pubblicata nel 1992 da Nisbet e LaGoy, utilizzando come composto di riferimento il benzo[a]pirene. Essendo il BaP l'IPA su cui è stata prodotta la maggiore quantità di letteratura, è rimasto come fattore di riferimento anche per successive serie pubblicate, le unità usate sono le BaPE o BaPEq, benzo[a]pirene-equivalenti. (Law et al., 2002; Haleck et al., 2008). A sostenere ulteriormente la scelta di questo composto come standard è stata anche la constatazione che nelle contaminazioni ambientali si ha generalmente una correlazione lineare fra i livelli di concentrazione di BaP e quella complessiva di tutti gli IPA (Haleck et al. 2008 e riferimenti all'interno).

L'uso dei termini TEF e TEQ per gli IPA è divenuto la norma, tuttavia è improprio. Questi fattori sono stati sviluppati da analisi di rischio sulle potenzialità cancerogene di tali composti, non delle proprietà tossiche. Tutti fattori di equivalenza forniscono quindi la potenzialità cancerogena equivalente per composti dove i dati sono sufficienti ad elaborare una rigorosa e quantitativa analisi di rischio (in verità solo il BaP ha un database tanto ampio), e attività cancerogena equivalente per gli altri in cui i dati di partenza sono più parziali.

È stato quindi proposto (Collins, 1998) l'utilizzo del termine **PEF** (*Potency Equivalent factor*) e **PEQ** (*Potency Equivalent*) come termini sostitutivi. TEF e TEQ sono rimasti quelli maggiormente in uso, ma una delle serie di fattori, quello dell'Ufficio per la Valutazione del Rischio Ambientale e Sanitario OEHHA (*Office of Environmental Health*

Hazard Assessment, divisione della US EPA con sede nello Stato della California), che ha operato a partire dalla serie e metodi pubblicati da US EPA (1993), adotta il termine PEF.

Esistono studi anche sulla produzione di fattori di equivalenza tossica, quindi sarebbero corretti i termini TEF e TEQ, degli IPA, specie quelli leggeri, ma hanno destato molta meno attenzione e sono ancora in fase preliminare (Fisher et al. 2011).

Come si può osservare nella Tabella 3.3, le serie di fattori di equivalenza spesso non collimano, e il lavoro di Nisbet e LaGoy assegna fattori di equivalenza non nulli a IPA che non sono stati classificati come cancerogeni né dalla US EPA né dalla IARC. Questa variabilità nelle stime è ovviamente dovuta alla complessità degli studi. Per un IPA è intrinsecamente difficile costruire una retta dose-risposta, in quanto sono composti genotossici se vengono prodotti fortuitamente degli specifici stereoisomeri dalla loro metabolizzazione (Law et al., 2002 e riferimenti all'interno). Per la maggioranza degli IPA la curva dose-risposta ha un andamento sigmoidale e l'approssimazione a retta causa grande errore per i valori estremi. Oltretutto sono rare base dati riguardanti l'esposizione cronica ad IPA su esseri umani, e la maggioranza riguarda miscele di IPA e non i singoli composti. Anche la matrice e la via di esposizione influenzano notevolmente sia la potenzialità cancerogena che le procedure di valutazione, per cui si ha spesso a che fare con studi eterogenei e difficilmente paragonabili (Collins, 1998).

Tabella 3.3 Classificazione della cancerogenicità dei 16 IPA prioritari US EPA

Nome	PM	Num. anelli	Gruppo IARC	Gruppo US EPA	TEF US EPA	PEF OEHHA	TEF Nisbet e LaGoy, 1992	
IPA leggeri	Naph	128.2	2	–	D	–	–	0.001
	Ace	152.2	3	–	D	–	–	0.001
	Acy	154.2	3	–	–	–	–	0.001
	Fl	166.2	3	3	D	–	–	0.001
	Phe	178.2	3	3	D	–	–	0.01
	Ant	178.2	3	3	D	–	–	0.01
IPA pesanti	Fluo	202.3	4	3	D	–	–	0.001
	Pyr	202.3	4	3	D	–	–	0.001
	BaA	228.3	4	2A	B2	0.1	0.1	0.1
	Chry	228.3	4	3	B2	0.001	0.01	0.1
	BaP	252.3	5	1	B2	1.00	1.00	1.00
	BbF	252.3	5	2B	B2	0.1	0.1	0.1
	BkF	252.3	5	2B	B2	0.01	0.1	0.1
	BghiP	276.3	6	3	D	–	–	0.001
IndP	276.3	6	2B	B2	0.1	0.1	0.1	
DbahA	278.4	5	2A	B2	1.00	–	5.00	

Classificazione nei gruppi IARC e US EPA degli IPA oggetto di analisi, e fattori di equivalenza US EPA, OEHHA, e di Nisbet e LaGoy. **Fonti:** IARC, 2010; US EPA, 1993; OEHHA, 2005; Nisbet e LaGoy, 1992.

4. DEGRADAZIONE MICROBICA DEGLI IPA

Come già accennato gli IPA introdotti in ambiente possono affrontare una serie di processi (volatilizzazione, ossidazione chimica e fotochimica, sedimentazione, bioaccumulo ecc.) che portano alla loro rimozione dal comparto ambientale. Di questi processi quello più efficace è la degradazione microbica (Cerniglia et al. 1992).

Sebbene la maggioranza degli studi sugli IPA si concentri sulla contaminazione del comparto atmosferico, suoli e sedimenti hanno un ruolo molto rilevante in quanto sono il deposito finale di questi inquinanti. La maggioranza dei microrganismi in grado di degradare gli IPA necessitano di una superficie solida su cui aderire, pertanto suoli e sedimenti sono la matrice in cui può avvenire la degradazione microbica degli IPA (Haritash e Kaushik , 2009 e riferimenti all'interno). La biodegradazione può essere definita come la catalisi da parte degli organismi di reazioni che comportano la riduzione di complessità di un composto organico. Se questa riduzione di complessità porta alla formazione di specie inorganiche, acqua, biossido di carbonio, ammonio, nitrati ecc. si parla di mineralizzazione. Le comunità microbiche possono degradare una grande varietà di composti sintetici e probabilmente tutte le sostanze naturali (Suthersan, 1999)

I sedimenti di estuario e laguna sono inoltre particolarmente interessati da questo tipo di attività biologiche, perché, mentre in ambienti oceanici il ciclo della materia organica si ha principalmente nella colonna d'acqua, la scarsa profondità dei fondali comporta un'importante deposizione di materia organica che viene degradata e modificata da dense comunità bentoniche (Tian et al. 2008).

Gli idrocarburi alifatici e aromatici vengono immessi in ambiente anche da fonti naturali (incendi, eruzioni, metabolismo di alcune piante ecc.), quindi che già esistevano prima della rivoluzione industriale. Ciò ha concesso ai microrganismi dei tempi evolutivi per sviluppare vie metaboliche che portano alla degradazione degli idrocarburi, siano esse di:

1. **Detossificazione:** già vista nel capitolo precedente, è la via metabolica finalizzata alla trasformazione del composto in una forma meno pericolosa o più facilmente rimovibile, senza utilizzarlo come fonte di energia o carbonio. Tipici indicatori di un metabolismo di detossificazione aerobico di sostanze organiche in atto sono i CYPs.
2. **Catabolismo:** utilizzo dei composti come fonte di carbonio ed energia. Nel caso degli IPA solo i batteri hanno sviluppato vie cataboliche.
3. **Cometabolismo:** trasformazione di un composto organico da parte di un microrganismo che però è incapace di usarlo come fonte di energia. Si tratta quindi di un evento fortuito in cui il composto, detto substrato secondario, è coinvolto in processi metabolici predisposti per un altro substrato.

Frequentemente i derivati dei processi cometabolici o di detossificazione di alcuni organismi possono diventare substrati di crescita dei batteri. Molti degli IPA pesanti possono essere degradati attraverso processi cometabolici, cioè quando è presente anche un substrato utilizzabile.


Come già visto, gli IPA sono fra gli idrocarburi i composti più stabili, idrofobici e stereochimicamente complessi. La loro degradazione è più lenta e difficile da studiare. Gli IPA pesanti sono quelli più refrattari e le indagini sulla loro degradazione batterica hanno

fatto progressi significativi solo dal 1990 in poi (Samanta et al. 2002). Siccome gli IPA pesanti sono maggiormente prodotti dalla combustione incompleta rispetto ai processi sedimentari e metamorfici, le miscele pirogeniche sono le più pericolose e difficili da abbattere (Lei et al. 2005).

4.1 Aerobiosi, anossia, anaerobiosi

I microrganismi possono seguire diversi tipi di metabolismo a seconda delle condizioni redox e dell'accettore di elettroni maggiormente disponibile nell'ambiente. Si distingue in (Tabella 4.1) respirazione aerobica, con accettore di elettroni l'ossigeno molecolare, respirazione anaerobica (detta anossia nel linguaggio che afferisce al trattamento biologico delle acque di scarico), con accettore di elettroni altri ioni ossidanti, e fermentazione, sempre in anaerobiosi, dove non è presente alcun accettore di elettroni esterno e le reazioni non comportano alcuna variazione dello stato redox complessivo.

Tabella 4.1 Modelli metabolici a confronto

Potenziale Redox	Tipo di reazione	Substrato di crescita	Accettore di elettroni	Prodotti finali
>300 mV  -300 mV	Respirazione aerobica			
	Eterotrofia	Composti organici	O ₂	CO ₂ , H ₂ O
	Ammonio ossidazione	NH ₄	O ₂	NO ₂ ⁻ , NO ₃ ⁻ , H ₂ O
	Ferro ossidazione	Fe ²⁺	O ₂	Fe ³⁺
	Solfuro ossidazione	S ²⁻	O ₂	SO ₄ ²⁻
	Respirazione anaerobica (anossia)			
	Denitrificazione	Composti organici	NO ₃ ⁻	N ₂ , CO ₂ , H ₂ O, Cl ⁻
	Manganese riduzione	Composti organici	Mn ⁴⁺	Mn ²⁺ , CO ₂ , H ₂ O
	Ferro riduzione	Composti organici	Fe ³⁺	Fe ²⁺ , CO ₂ , H ₂ O
	Solfato riduzione	Composti organici	SO ₄ ²⁻	S ²⁻ , CO ₂ , H ₂ O, Cl ⁻
	Idrogenotrofia	H ₂	SO ₄ ²⁻	S ²⁻ , H ₂ O
	Idrogenotrofia	H ₂	CO ₂	CH ₄ , H ₂ O
Fermentazione				
Metanogenesi	Composti organici	Composti organici	Composti Organici, CO ₂ , CH ₄	

I diversi modelli metabolici dei batteri sono stati ordinati potenziale redox a cui possono avvenire, substrato di crescita, accettore di elettroni richiesto, prodotti finali. Gli ioni ferro e manganese si dimostrano particolarmente importanti quando l'azione degradativa si svolge in suoli e sedimenti. Fonte: Suthersan, 1999

Le questioni legate alle cinetiche dei diversi modelli e alla disponibilità dell'accettore di elettroni verranno trattate in seguito. Basti sapere per ora che, sebbene l'aerobiosi assicuri una degradazione più veloce e completa degli IPA, la disponibilità dell'ossigeno in acque e sedimenti, rispetto ad accettori alternativi, è un serio fattore limitante.

4.2 Limitazioni allo studio della degradazione microbica

La biodegradazione dei composti organici è stata estesamente studiata su scala di laboratorio, tanto da poter definire quantitativamente molte vie di degradazione dei contaminanti organici. Tuttavia si tratta di modelli non applicabili su campo, in quanto i fattori che concorrono alla determinazione dei tassi degradativi sono molteplici e

difficilmente calcolabili e controllabili. L'attività degradativa complessiva di una comunità microbica in ambiente naturale, esposta ad una miscela di IPA, è ancora da considerarsi un processo *black box* (Haritash e Kaushik, 2009 e riferimenti all'interno).

In via del tutto teorica la degradazione microbica dovrebbe portare alla completa mineralizzazione degli IPA, cioè alla loro degradazione in acqua, biossido di carbonio (per i processi aerobici e anossici) o metano (per quelli anaerobici). La completa mineralizzazione in verità è un evento molto raro, e si assiste piuttosto alla metabolizzazione degli inquinanti in intermedi di reazione che non vengono ulteriormente degradati. Questi derivati sono generalmente meno pericolosi, in termini di tossicità e cancerogenicità con i composti parentali, ma si presenta anche l'eventualità opposta.

4.3 Batteri

Sono i microrganismi più comuni nei suoli, con la più elevata diversità genetica e metabolica. Sono allo stato attuale delle conoscenze gli unici organismi in grado di utilizzare gli IPA come fonte di carbonio ed energia (Cerniglia, 1992). A loro è dedicata larga parte della trattazione.

4.3.1 Metabolismo aerobico

I batteri aerobici innescano il catabolismo degli IPA attraverso l'azione delle **ossigenasi batteriche**. Le ossigenasi sono gli enzimi batterici multicomponente (differenti catene polipeptidiche con diversi ruoli catalitici) coinvolti nel metabolismo aerobico degli idrocarburi in generale (non solo IPA). La loro funzione consiste nell'aggiungere atomi di ossigeno, da ossigeno molecolare, alla molecola, per aumentarne solubilità e reattività e quindi renderla suscettibile a successive reazioni. Il donatore di elettroni è generalmente un piridin nucleotide ridotto (NADH o NADPH) e l'accoppiamento con l'ossigeno molecolare è mediato da flavoproteina.

Si distingue fra **monossigenasi**, che aggiungono un solo gruppo idrossile alla molecola di idrocarburo (esistono monossigenasi alifatiche e aromatiche) e riducono il restante atomo di ossigeno ad acqua e **diossigenasi**, che aggiungono entrambi gli atomi di ossigeno sotto forma di gruppi idrossile. L'azione delle ossigenasi è fortemente stereoselettiva.

Le diossigenasi assumono particolare rilevanza in quanto sono gli enzimi in grado di rompere l'anello aromatico. Sono di due tipi: diossigenasi di attivazione che catalizzano la prima ossidazione dell'idrocarburo policiclico aromatico, e diossigenasi di apertura che ossidano ulteriormente il composto ottenuto per dare l'apertura dell'anello. Inoltre gli enzimi deidrogenasi catalizzano la trasformazione dei prodotti della prima diossigenasi in substrati fruibili per la seconda.

I tre enzimi agiscono in questa sequenza:

1. **Diossigenasi di attivazione:** introducono una molecola di ossigeno nell'anello aromatico utilizzando come donatore di elettroni piridin nucleotidi ridotti. Il prodotto finale è un diidrodiolo (composto attivato).

Mentre le diossigenasi batteriche danno **cis-diidrodioli**, composti che poi vengono catabolizzati, le ossigenasi eucariotiche (i citocromi P450) producono **trans-diidrodioli**, che affrontano un metabolismo di detossificazione (e possibile generazione di derivati tossici e cancerogeni). Anche alcuni batteri possiedono il citocromo P450 e possono produrre *trans*-diidrodioli.

2. **Deidrogenasi:** sottraggono due atomi di idrogeno al *cis*-diidrodiole utilizzando come accettore di protoni un NAD⁺. Questo comporta il ripristino del legame aromatico all'interno dell'anello (**riaromatizzazione**) e la formazione di un catecolo.
3. **Diossigenasi di apertura:** introducono un'altra molecola di ossigeno nel catecolo, provocando l'apertura dell'anello aromatico. Non necessitano di piridin nucleotidi ridotti come donatori di elettroni. (Haritash e Kaushik , 2009 e riferimenti all'interno)

L'azione delle diossigenasi di apertura può avvenire in posizione *orto* detta anche intradiolo, con formazione di due gruppi carbossilici, o posizione *meta*, o extradiolo, con formazione di un gruppo carbossilico e uno carbonilico, oltre al preesistente gruppo ossidrilico. Le vie metaboliche per la decomposizione di questi due derivati alternativi si chiamano *ortho-pathway* e *meta-pathway*, e portano alla produzione di acidi tricarbossilici utilizzabili nel TCA.

Si può affermare in linea generale che il catabolismo degli IPA consiste nell'apertura di un anello dopo l'altro ad opera degli enzimi già elencati. È più frequente però che si accumulino intermedi di reazione piuttosto che arrivare alle mineralizzazione.

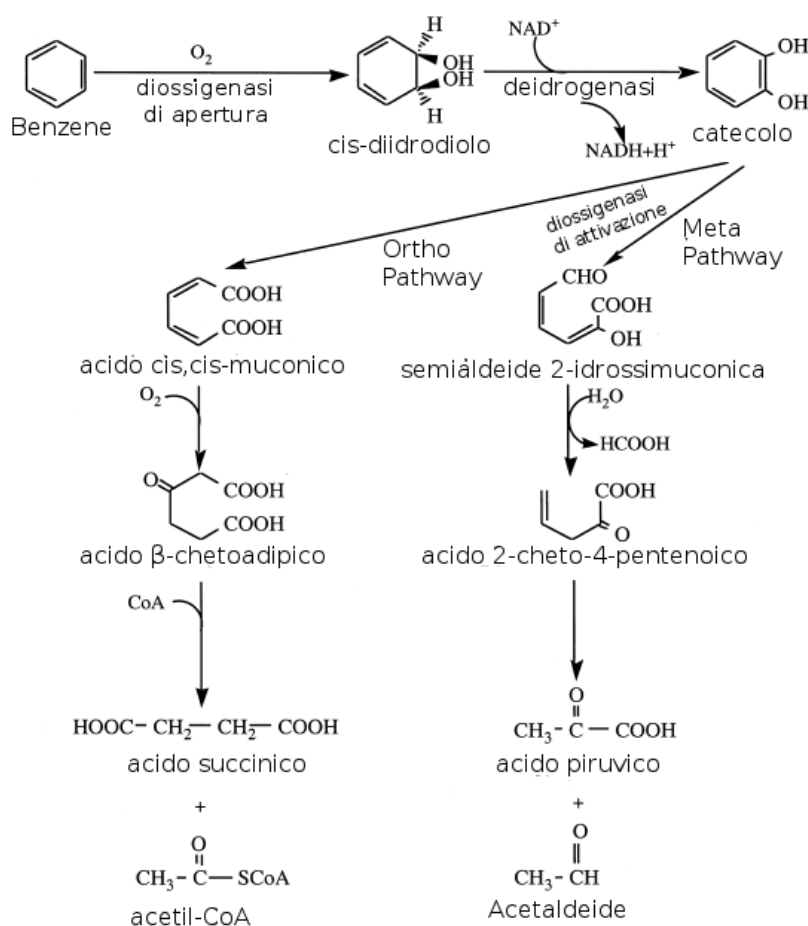


Immagine 4.1 degradazione del benzene nel catabolismo aerobico dei batteri.
Fonte: Juhasz e Naidu, 2000

Uno dei batteri più estesamente studiati per la degradazione degli IPA leggeri è lo *Pseudomonas putida*. Viene di seguito illustrato (Immagine 4.2) lo schema della

degradazione del naftalene ad opera di tale batterio. I geni che codificano la produzione di enzimi per il catabolismo del naftalene (*nah*) sono localizzati su un plasmide esterno. Quest'ultimo è un elemento di particolare interesse perché consente, attraverso la coniugazione, a batteri di altre specie di acquisire, in natura e ambiente di laboratorio, la via metabolica del naftalene.

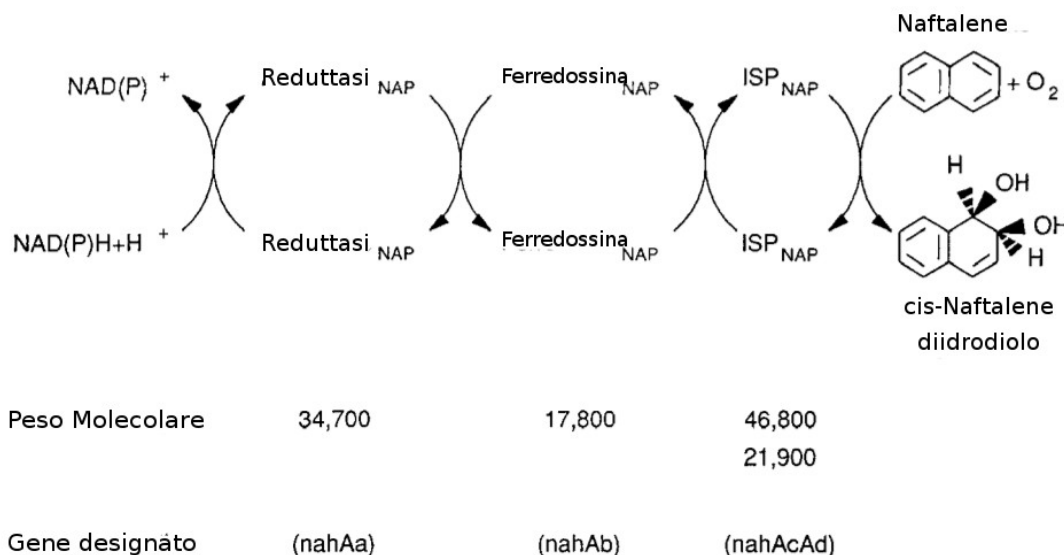


Immagine 4.2 ciclo degli enzimi coinvolti nella prima scissione dell'anello aromatico ad opera del batterio *P. putida* in condizioni di aerobiosi. Le ISP sono le proteine ferro-zolfo (Iron-sulfur proteins). Essendo i geni che codificano tali enzimi localizzati su plasmidi, questo tipo di catabolismo è condiviso da altri batteri. **Fonte:** Cerniglia, 1992.

La degradazione degli IPA dai tre anelli in su, HMW PAHs, si presenta invece molto più rara e complessa. Gli IPA pesanti sono intrinsecamente più stabili e la loro bassa solubilità ed elevata lipoficità li rende, scarsamente biodisponibili (Cerniglia, 1992).

Sebbene fossero stati già isolati dagli anni '70 dei possibili metaboliti da degradazione microbica di IPA pesanti, fu alla fine degli anni '80 che furono pubblicati gli studi che dimostrarono l'esistenza di questi processi. Heitkamp e Cerniglia pubblicarono nel 1988 il primo studio sull'isolamento di un batterio gram-positivo, proveniente dal sedimento vicino ad un giacimento petrolifero, in grado di degradare cometabolicamente un certo numero di IPA pesanti, fra cui fluorantene, pirene e diversi sostituiti. Sempre nel 1988 Mahaffey et al. presentarono la prima diretta dimostrazione di fissione dell'anello nella degradazione di IPA pesanti ad opera di *Beijerinckia sp.* ceppo B1 (riclassificato come *Sphingomonas yanoikuyae*): il BaA era stato degradato in tre acidi *o*-idrossipoliaromatici. Nel 1989 Mueller et al. dimostrarono che era possibile da parte di una comunità di sette diverse specie batteriche isolate da un suolo contaminato da creosoto, l'utilizzazione di una miscela di IPA pesanti come sola fonte di carbonio, quando era presente anche il fluorantene. Negli anni successivi vennero pubblicati diversi studi che affermavano la capacità di diverse specie batteriche (*Mycobacterium sp.*, *Pseudomonas paucimobilis*) di utilizzare il fluorantene come sola fonte di carbonio ed energia ed il composto è stato preso come modello per gli schemi di degradazione di IPA a quattro anelli. Usando il composto come modello si è anche studiato l'effetto dell'aggiunta di surfattanti a suoli per incrementare la biodisponibilità, giungendo alla conclusione che l'efficacia varia a seconda delle condizioni ambientali e della comunità batterica (Kanaly e Harayama, 2000).

All'interno del genere *Mycobacterium sp.* sono state trovate diverse specie in grado di degradare il fluorantene e il pirene (isomero pericondensato) usandole come sole fonti di energia e carbonio. Colonie di *Mycobacterium sp.*, in un mezzo salino arricchito con nutrienti, abbatterono il contenuto in fenantrene del 95% (Samanta et al. 2002). Dagli studi effettuati sul catabolismo del pirene nei suoli contaminati è emersa un'importante evidenza: Gli enzimi di digestione del pirene sono indotti, poiché popolazioni preventivamente esposte al pirene e poi introdotte nel sito contaminato iniziano la degradazione senza attraversare fase lag. L'aggiunta di chloramphenicol (inibente della sintesi batterica delle proteine) infatti impedisce alle popolazioni di iniziare la degradazione degli idrocarburi.

L'Immagine 4.3 fornisce uno schema della degradazione del BaP ad opera di tale batterio.

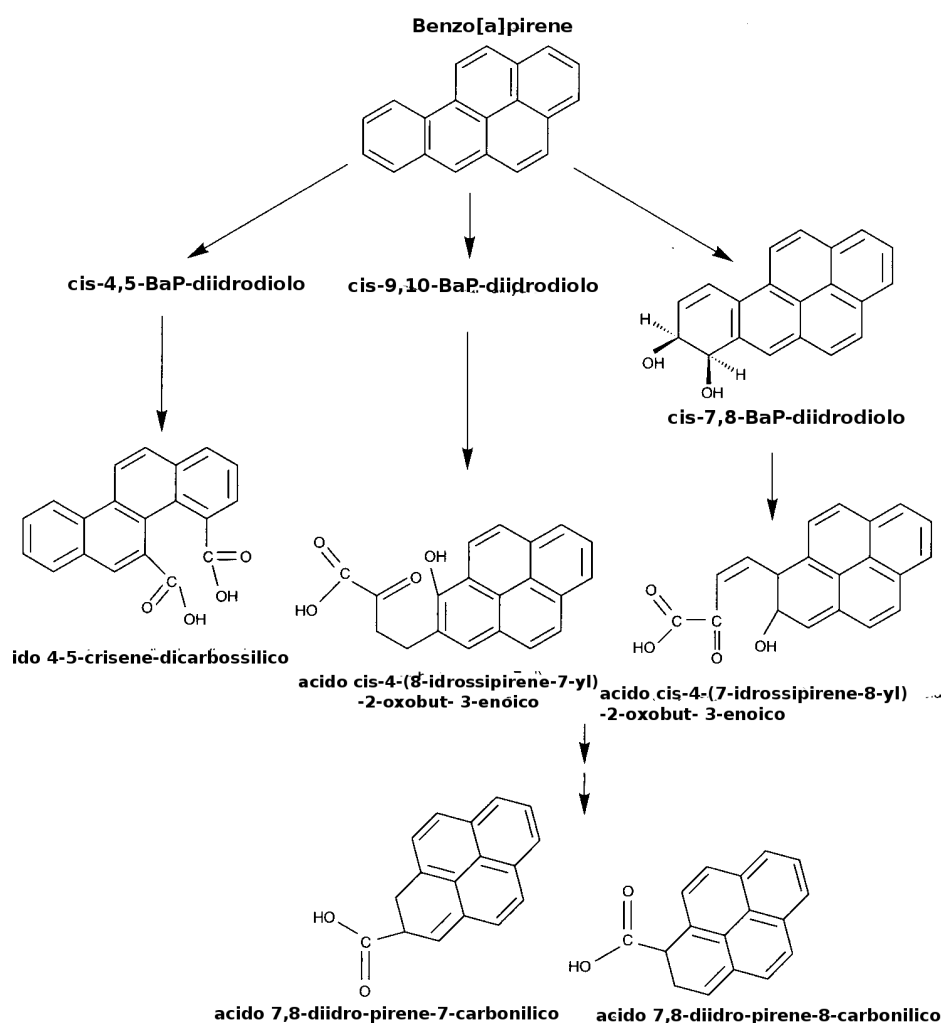


Immagine 4.3 Schema di degradazione del BaP per il batterio *Mycobacterium sp.* ceppo RJGII-135. Sono illustrati i metaboliti identificati. **Fonte:** Kanaly e Harayama, 2000.

I *Mycobacterium sp.* e gli attinomiceti in generale sono i batteri maggiormente studiati nella degradazione degli IPA dai quattro anelli in su, tuttavia si trovano altri esempi di degradatori (vedi Tabella 4.2). Ad esempio il batterio nocardioforme *Burkholderia cepacia* di cui Juhasz et al. (1997) hanno dimostrato la capacità di crescere con pirene oppure fluorantene come sole fonti di carbonio. Il Benzo[a]antracene invece richiedeva

fluorantene o pirene, perlomeno in coltura di arricchimento, per poter essere degradato.

Pochi studi sono stati effettuati su batteri in grado di degradare IPA dai cinque anelli in su, e maggior parte di questi sono stati incentrati sul BaP. La biodegradabilità del BaP è stata provata in diversi esperimenti ma attualmente non sembra esista una specie o consorzio batterico in grado di utilizzarlo come sola fonte di carbonio ed energia: la biodegradazione del BaP è stata rivelata solo in miscele di IPA oppure dove una fonte alternativa di carbonio, ad esempio il succinato era stata fornita, supportando l'ipotesi del cometabolismo. Il fluorantene, come già visto, è in grado di indurre gli enzimi necessari alla degradazione di una varietà di IPA, con il BaP ciò non succede e la degradazione di BaP non è maggiore in ceppi precedentemente esposti al fluorantene. Ciò porta a supporre che gli enzimi per la degradazione del BaP siano radicalmente diversi da quelli che degradano gli altri IPA (Kanaly e Harayama, 2000). Schneider et al. (1996) hanno fornito, quello che è ancora l'unico schema di un'ipotetica via di degradazione batterica del BaP, che segue sempre il principio della diossigenasi.

4.3.2 Metabolismo anaerobico

Come già accennato, la biodegradazione in assenza di ossigeno è più lenta e meno conosciuta. In condizioni anaerobiche (fermentazione, solfatoriduzione, denitrificazione) possono essere degradati IPA fino a tre anelli ma non è ancora stato chiarito se questo sia possibile anche per quelli più pesanti (Haritash e Kaushik, 2009 e riferimenti all'interno).

Attraverso una prova con inibitori selettivi, i solfatoriduttori (*sulphate reducing bacteria*, **SBR**), si sono dimostrati essere i microrganismi anaerobi maggiormente attivi nell'ossidazione degli IPA.

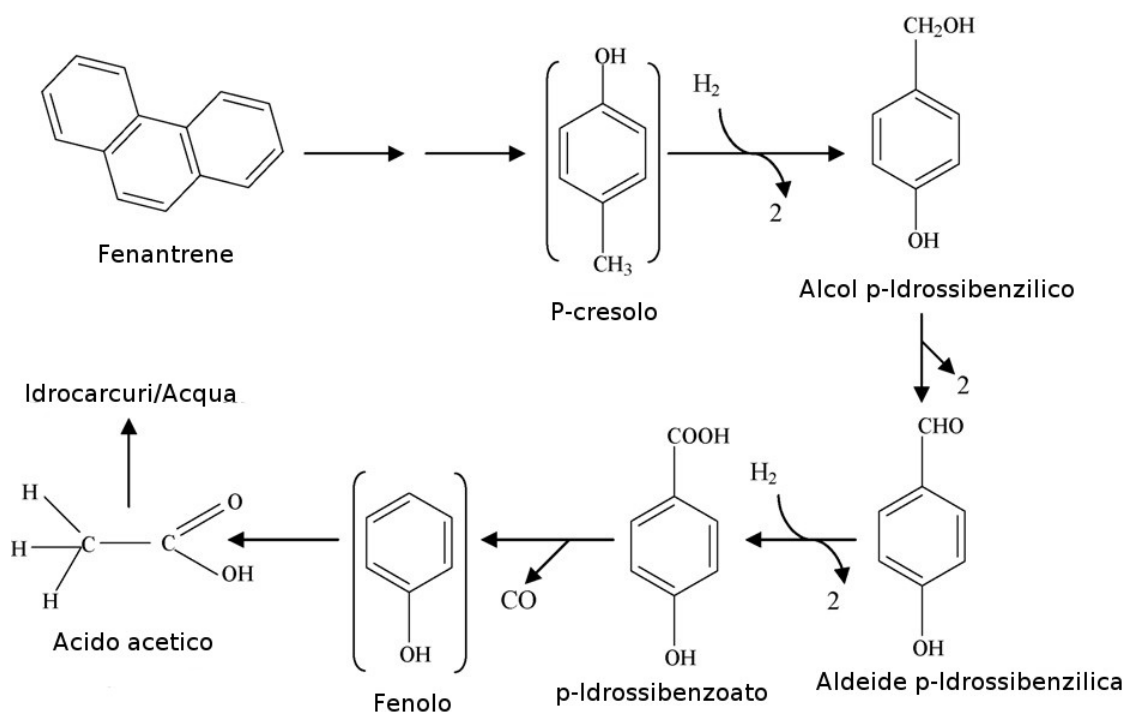


Immagine 4.4 Degradazione batterica del fenantrene in condizioni di anaerobiosi. **Fonte:** Haritash e Kaushik, 2009.

Si suppone che anche in condizioni anaerobiche la degradazione degli IPA avvenga attraverso ossidazione e rottura dell'anello ad opera di enzimi omologhi delle ossigenasi,

che usano come accettore di elettroni nitrati e solfati. L'efficace degradazione degli IPA avviene, del resto come in aerobiosi, a livello di comunità. L'attuale modello identifica tre stadi:

1. Ossidazione iniziale degli IPA a carico dei batteri denitrificanti o solfatoriduttori;
2. I metaboliti prodotti complessano gli ossidi di Fe (III) ripartiti nella fase solida e li rendono biodisponibili per i batteri ferroriduttori;
3. I batteri ferroriduttori assimilano gli ossidi di Fe(III) e per cometabolismo degradano ulteriormente i metaboliti.

4.4 Funghi

I funghi sono organismi eucariotici, incapaci di utilizzare gli IPA come fonte di carbonio ed energia. Le loro ossigenasi, fra cui i citocromi P450, producono *trans*-diidrodoli che poi affrontano un metabolismo di detossificazione analogo a quello umano. L'evidenza di questa similarità è emersa dagli studi sul fungo non ligninolitico *Cunninghamella elegans*. Come per gli esseri umani il fungo produce composti ossidati e coniugati con acido glucuronico, glutatione, solfati. Sebbene possano essere prodotti dei dioli epossidici cancerogeni, l'effetto complessivo del suolo contaminato è una soddisfacente detossificazione, inoltre, avendoli trasformati in molecole meno idrofobiche e più reattive, questi possono essere fruiti dai batteri.

Quello che però desta particolarmente interesse nel campo è l'attività addizionale dei funghi ligninolitici, di cui il rappresentante più studiato è il *Phanerochaete chrysosporium*, appartenente ai funghi del marciume bianco, *white rot fungi* **WTR**.

I funghi ligninolitici sono in grado di discernere, se posti in condizioni di scarsità di azoto, enzimi extracellulari in grado di degradare la lignina. Questi enzimi, molto aggressivi, degradano altre molecole organiche quali gli IPA.

La lignina è un biopolimero prodotto dalle piante legnose, costituito principalmente da composti fenolici, estremamente complesso e variabile. Ne consegue che gli enzimi ligninolitici debbano avere una bassa specificità di substrato e vengano secreti per attaccare la lignina in ambiente extracellulare. Gli enzimi seguono meccanismi di depolimerizzazione che generano radicali aromatici. I radicali aromatici, instabili vanno incontro a rottura di legami (etere, carbonio-carbonio, demetossilazione, rottura dell'anello aromatico) e generano derivati che possono essere assimilati ulteriormente degradati in ambiente cellulare, da parte del fungo o altri microorganismi presenti nel mezzo. Il grande contributo dei funghi alla degradazione degli IPA infatti non è solo la metabolizzazione che essi eseguono, ma anche la degradazione extracellulare, che trasforma i composti in intermedi più piccoli e polari che possono essere assimilati da una varietà di specie degradative (Juhász e Naidu, 2000). Gli enzimi ligninolitici si distinguono in:

1. Perossidasi: lignina perossidasi e manganese perossidasi. La loro azione combinata degrada efficacemente i substrati aromatici non fenolici;
2. Fenolasi: laccasi e tirosinasi, degradano i substrati fenolici;
3. Enzimi produttori di H₂O₂.

Gli unici funghi ligninolitici che producono tutti i tipi di enzimi appena citati sono i WTR. Generalmente i radicali aromatici generati dalla degradazione degli IPA affrontano reazioni non enzimatiche extracellulari per dare chinoni, che sono infatti indicatore di

degradazione ligninolitica degli IPA. Nemmeno i funghi ligninolitici sono in grado di catabolizzare i derivati prodotti. Infatti le popolazioni di *Phanerochaete chrysosporium* se poste in condizioni che non stimolano la produzione di enzimi ligninolitici (abbondanza di azoto ad esempio) producono derivati ossidati e coniugati in maniera del tutto analoga a quelle di *Cunninghamella elegans*.

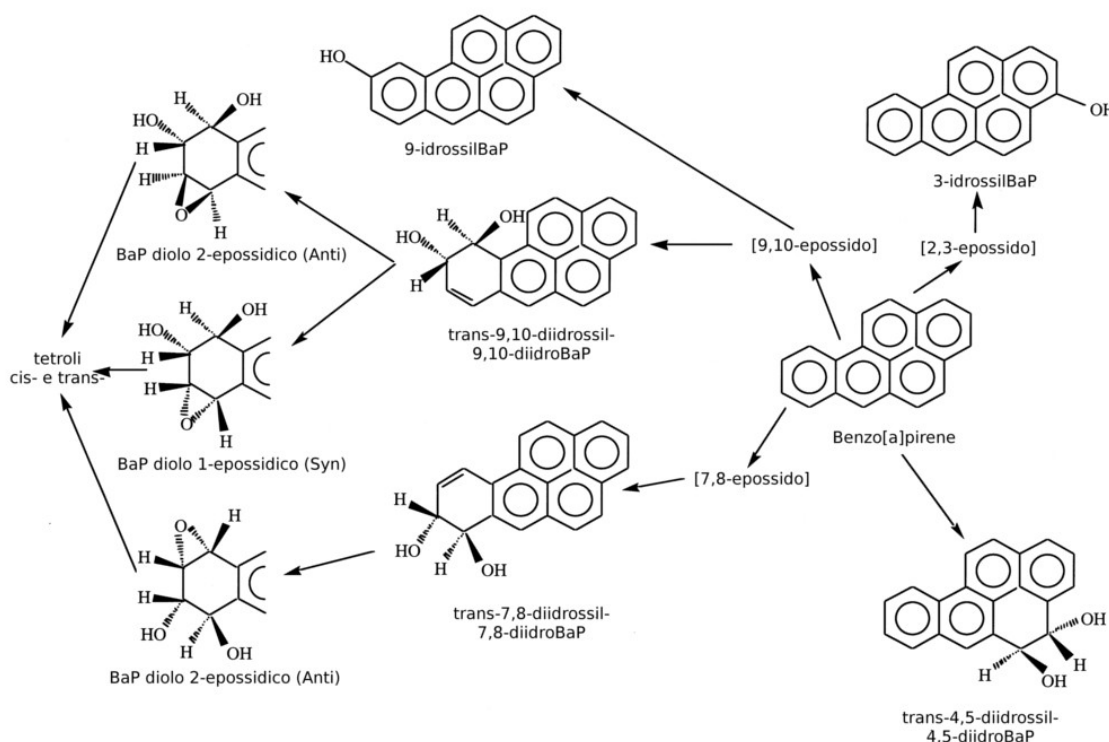


Immagine 4.5 Prodotti di trasformazione del Benzo[a]pirene ad opera dei funghi. La formazione di BaP idrossilati e BaP diidrodoli avviene attraverso la formazione di BaP epossidi. I diidrodoli possono essere trasformati in dioli epossidici, che possono essere ulteriormente degradati in cis- e trans-tetrioli.
Fonte: Juhasz e Naidu, 2000.

L'azione degli enzimi ligninolitici, essendo molto più aggressiva di quella dei normali processi detossificazione eucariota, è molto più veloce ed efficace e desta particolare interesse. È tuttavia difficile applicarla in maniera sistematica nel biorimedio dei suoli, perché è innescata in scarsità di azoto, e la distribuzione dei nutrienti nei suoli tende ad essere molto eterogenea e non controllabile.

4.5 Alghe

Per alghe si intendono complessivamente microrganismi fotoautotrofi (con qualche caso di eterotrofia) sia procarioti che eucarioti. Sono stati trovati organismi in grado di degradare gli IPA fra i Cianobatteri e le Alghe Verdi. Gli studi non sono stati molto approfonditi anche perché le alghe danno risultati discordanti con i modelli maggiormente riconosciuti, producendo sia *cis*- che *trans*-diidrodoli. I cianobatteri ad esempio, pur essendo procarioti producono *trans*-diidrodoli, seguendo un metabolismo analogo a quello degli eucarioti, mentre il *Selenastrum capricornutum*, alga eucariota, produce *cis*-diidrodoli, tipici del metabolismo batterico.

4.6 Panoramica sulla biodegradazione degli IPA

Di seguito si espone una sinossi dei processi di degradazione microbica in condizioni di anaerobiosi, con dettagli concernenti la tipologia di degradazione (Immagine 4.6) e l'elenco delle specie di cui è stata riscontrata la capacità di degradare un dato composto (Tabella 4.2). Si ripete che sono illustrazioni di relativa validità, essendo le attività dei microrganismi in condizioni ambientali ancora largamente sconosciute. Nelle sezioni successive si discuterà della descrizione dei processi di crescita e dell'influenza delle condizioni ambientali.

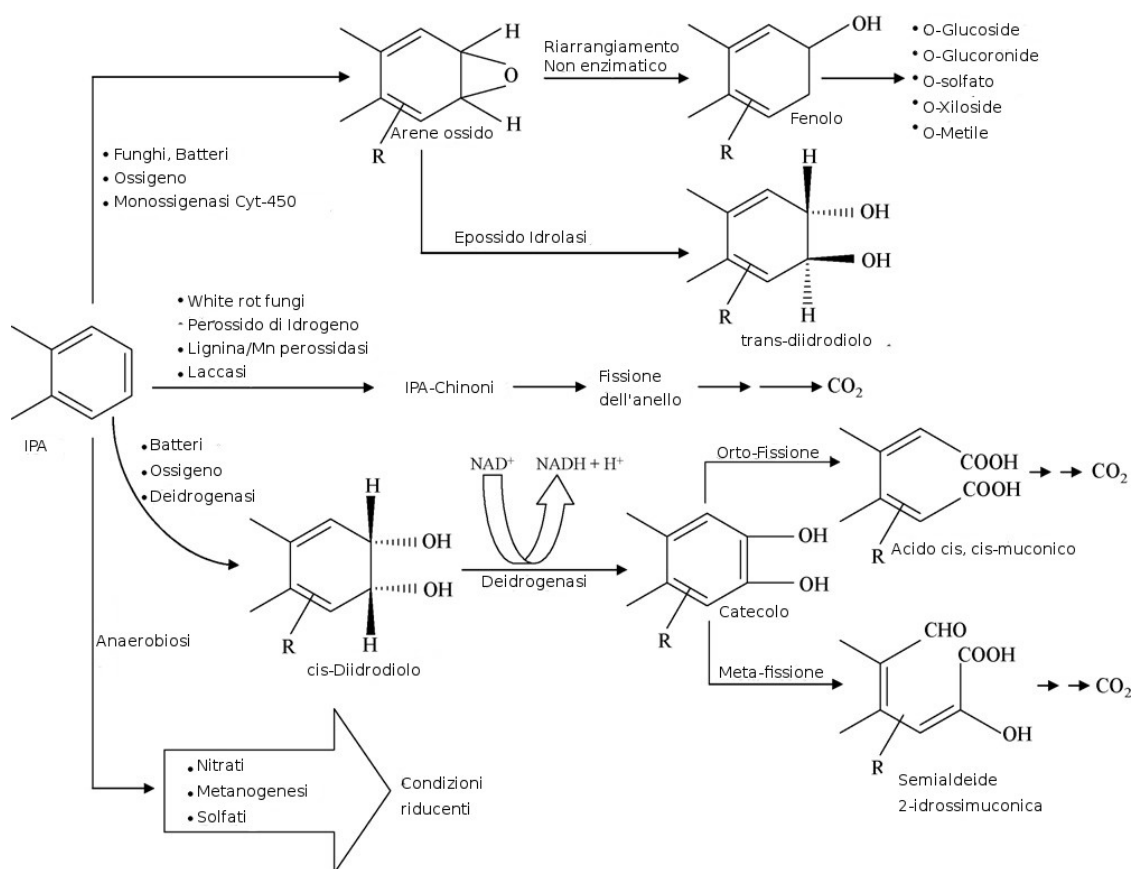


Immagine 4.6 Schema di ossidazione degli IPA ad opera dei microrganismi secondo le differenti vie metaboliche. **Fonte:** Haritash e Kaushik, 2009.

Tabella 4.2 Microrganismi degradatori di IPA.

Sigla	Num. anelli	Batteri	Funghi	Alghe
IPA leggeri (LMW PAHs)	Napht	2 <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> , <i>Alcaligenes denitrificans</i> , <i>Mycobacterium sp.</i> , <i>Pseudomonas sp.</i> , <i>Pseudomonas putida</i> , <i>Pseudomonas fluorescens</i> , <i>Pseudomonas paucimobitis</i> , <i>Pseudomonas vesicularis</i> , <i>Pseudomonas cepacia</i> , <i>Pseudomonas testosteroni</i> , <i>Rhodococcus sp.</i> , <i>Corynebacterium renale</i> , <i>Moraxella sp.</i> , <i>Streptomyces sp.</i> , <i>Bacillus cereus</i> .	<i>Absidia glauca</i> , <i>Aspergillus niger</i> , <i>Basidiobolus ranarum</i> , <i>Candida utilis</i> , <i>Choanephora campincta</i> , <i>Circinella sp.</i> , <i>Claviceps paspali</i> , <i>Cokeromyces poitrassi</i> , <i>Conidiobolus gonimodes</i> , <i>Cunninghamella bainieri</i> , <i>Cunninghamella elegans</i> , <i>Cunninghamella japonica</i> , <i>Emericellopsis sp.</i> , <i>Epicoccum nigrum</i> , <i>Gilbertella persicaria</i> , <i>Gliocladium sp.</i> , <i>Helicostylum piriforme</i> , <i>Hyphochytrium catenoides</i> , <i>Linderina pennispora</i> , <i>Mucor hiemalis</i> , <i>Neurospora crassa</i> , <i>Panaeolus cambodginensis</i> , <i>Panaeolus subbatteatus</i> , <i>Penicium chrysogenum</i> , <i>Pestalotia sp.</i> , <i>Phytochytrium reinboldtae</i> , <i>Phycomyces blakesleeanus</i> , <i>Phytophthora cinnamomi</i> , <i>Psilocybe cubensis</i> , <i>Psilocybe strictipes</i> , <i>Psilocybe stuntzii</i> , <i>Psilocybe subaeruginascens</i> , <i>Rhizophlyctis harderi</i> , <i>Rhizophlyctis rosea</i> , <i>Rhizopus oryzae</i> , <i>Rhizopus stotonifer</i> , <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>Saprolegnia parasitica</i> , <i>Sminium culicis</i> , <i>Smittium culisetae</i> , <i>Smittium simulii</i> , <i>Sordaria firmicola</i> , <i>Syncephalastrum racemosum</i> , <i>Thamnidium anomalum</i> , <i>Zygorhynchus moelleri</i>	<i>Oscillatoria sp.</i> (ceppo JCM), <i>Oscillatoria sp.</i> (ceppo MEV), <i>Microcoleus chthonoplastes</i> , <i>Nostoc sp.</i> , <i>Anabaena sp.</i> (ceppo CA), <i>Anabaena sp.</i> (ceppo IF), <i>Agmenellum quadruplicatum</i> , <i>Coccochloris elabens</i> , <i>Aphanocapsa sp.</i> , <i>Chlorella sorokiniana</i> , <i>Chlorella autotrophica</i> , <i>Dunaliella tertiolecta</i> , <i>Chlamydomonas angulosa</i> , <i>Ulva fasciata</i> , <i>Cylindrotheca sp.</i> , <i>Amphora sp.</i> , <i>Nitzschia sp.</i> , <i>Synedra sp.</i> , <i>Navicula sp.</i> , <i>Porphyridium cruentum</i>
	Acy	3 <i>Beirerinckia sp.</i> , <i>Pseudomonas putida</i> , <i>Pseudomonas fluorescens</i> , <i>Pseudomonas cepacia</i> , <i>Pseudomonas sp.</i>	<i>Cunninghamella elegans</i>	–
	Ant	3 <i>Beirerinckia sp.</i> , <i>Mycobacterium sp.</i> , <i>Pseudomonas putida</i> , <i>Pseudomonas paucimobilis</i> , <i>Pseudomonas cepacia</i> , <i>Rhodococcus sp.</i> , <i>Flavobacterium sp.</i> , <i>Arthrobacter sp.</i>	<i>Bjerkandera sp.</i> , <i>Cunninghamella elegans</i> , <i>Phanerochaete chrysosporium</i> , <i>Ramaria sp.</i> , <i>Rhizoctonia sotani</i> , <i>Trametes versicolor</i>	–
	Phe	3 <i>Aeromonas sp.</i> , <i>Alcaligenes faecalis</i> , <i>Alcaligenes denitrificans</i> , <i>Arthrobacter polychromogenes</i> , <i>Beirerinckia sp.</i> , <i>Microoococcus sp.</i> , <i>Mycobacterium sp.</i> , <i>Pseudomonas putida</i> , <i>Pseudomonas paucimobilis</i> , <i>Rhodococcus sp.</i> , <i>Vibrio sp.</i> , <i>Nocardia sp.</i> , <i>Flavobacterium sp.</i> , <i>Streptomyces sp.</i> , <i>Streptomyces griseus</i> , <i>Acinetobacter sp.</i>	<i>Cunninghamella elegans</i> , <i>Phanerochaete chrysosporium</i> , <i>Trametes versicolor</i> .	<i>Oscillatoria sp.</i> (ceppo JCM), <i>Agmenellum quadruplicatum</i>
IPA pesanti (HMW PAHs)	Fluo	4 <i>Alcaligenes denitrificans</i> , <i>Burkholderia cepacia</i> , <i>Mycobacterium sp.</i> , <i>Pseudomonas putida</i> , <i>Pseudomonas paucimobilis</i> , <i>Pseudomonas cepacia</i> , <i>Rhodococcus sp.</i> , <i>Pseudomonas sp.</i>	<i>Cunninghamella elegans</i>	–
	Pyr	4 <i>Alcaligenes denitrificans</i> , <i>Burkholderia cepacia</i> , <i>Mycobacterium sp.</i> , <i>Rhodococcus sp.</i>	<i>Cunninghamella elegans</i> , <i>Phanerochaete chrysosporium</i>	–
	BaA	4 <i>Alcaligenes denitrificans</i> , <i>Beirerinckia sp.</i> , <i>Burkholderia cepacia</i> , <i>Pseudomonas putida</i>	<i>Cunninghamella elegans</i>	–
	Chry	4 <i>Rhodococcus sp.</i>	–	–
	BaP	5 <i>Beirerinckia sp.</i> , <i>Mycobacterium sp.</i>	<i>Aspergillus ochraceus</i> , <i>Bjerkandera adusta</i> , <i>Bjerkandera sp.</i> , <i>Candida maltosa</i> , <i>Candida tropicalis</i> , <i>Chrysosporium pannorum</i> , <i>Cunninghamella elegans</i> , <i>Mortierella verrucosa</i> , <i>Neurospora crassa</i> , <i>Penicillium sp.</i> , <i>Phanerochaete chrysosporium</i> , <i>Ramaria sp.</i> , <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>Trametes versicolor</i> , <i>Trichoderma viride</i>	<i>Selenastrum capricornutum</i>

Fonti: Cerniglia, 1992; Juhasz et al., 1997.

4.7 Cinetiche di degradazione microbica

È stato già detto quanto sia difficile ricostruire secondo un modello matematico l'attività degradativa microbica sul tempo. Si ricorre, per ipotizzare l'andamento d una biodegradazione su campo ad equazioni cinetiche che pongono in correlazione il tasso di degradazione di un substrato con la sua concentrazione. L'equazione basilare è:

$$-\frac{dC}{dt} = k \cdot C^n$$

C concentrazione del substrato;

t tempo;

k costante cinetica;

n parametro di *fitting*.

Le equazioni sono di fatto empiriche e riflettono l'assenza di conoscenze riguardo alle dinamiche delle attività degradative interne alla comunità (Immagine 4.6).

Queste cinetiche possono essere di:

Ordine 0: la concentrazione del substrato decresce linearmente con il tempo ed il tasso di degradazione (pendenza della retta) è determinato dalla densità microbica, che si presume abbia la classica crescita logaritmica;

Primo ordine: il tasso di degradazione di un contaminante è proporzionale alla sua concentrazione. Questo approccio tiene conto delle difficoltà dei microrganismi a degradare un substrato scarsamente disponibile;

Secondo ordine: le cinetiche del primo ordine sono legate alla densità di popolazione. Questo è l'approccio più realistico.

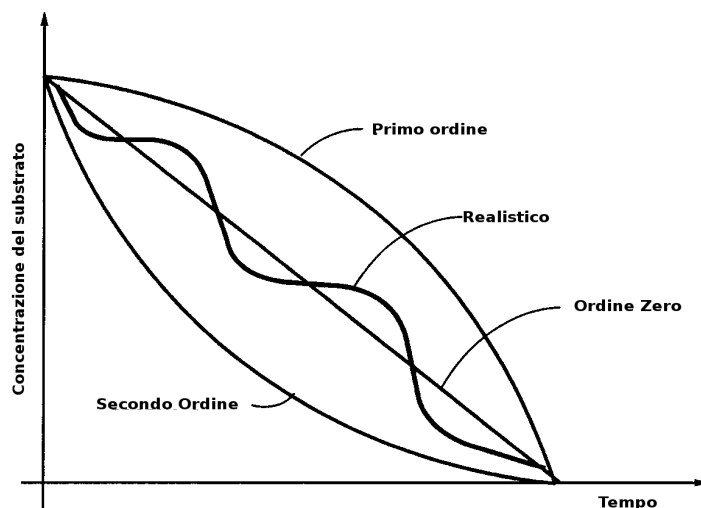


Immagine 4.7: Modelli di biodegradazione del substrato a confronto.

Nemmeno le cinetiche di secondo ordine possono però ricostruire esattamente l'andamento dei tassi di degradazione che si hanno dal vero, che sono generalmente oscillanti. Le cinetiche di degradazione sono quindi determinate da altri fattori non costanti nel tempo. Questo è particolarmente evidente quando lo studio è svolto su campo e in microcosmi.

4.8 Il triangolo della biodegradazione

Suthersan (1999) definisce il **triangolo della biodegradazione** (Immagine 4.7), ovvero suddivide l'insieme dei fattori noti che determinano le cinetiche di degradazione microbica in campo, suddiviso in tre gruppi: condizioni ambientali, caratteristiche dell'inquinante, caratteristiche dei microrganismi.

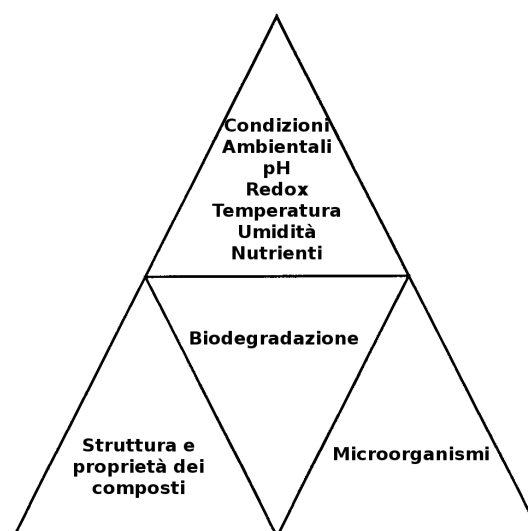


Immagine 4.8 Triangolo della biodegradazione.
Fonte: Suthersan, 1999.

L'interazione di questi fattori biotici e abiotici che condizionano la comunità di microrganismi degradatori e sono alla base della forte differenza fra le rese ottimali in condizioni di laboratorio e le rese su campo. La comunità potrebbe essere lontana dalle condizioni di proliferazione per via della scarsità di macronutrienti e substrati di crescita, temperature non ottimali, disponibilità di ossigeno, salinità e pH. Gli IPA potrebbero essere non biodisponibili perché ripartiti nella fase solida, oppure presenti ad una concentrazione tale da manifestare effetti tossici per la comunità. Potrebbero non essere trasportabili all'interno delle cellule, non essere substrato per gli enzimi presenti o non essere induttori degli opportuni sistemi di trasporto o metabolici (Juhász e Naidu, 2000).

Di seguito verranno approfonditi alcuni dei fattori appena elencati.

4.8.1 Condizioni ambientali

4.8.1.1 Temperatura

La correlazione fra temperatura e attività microbica è definita dalla curva di Arrhenius (Immagine 4.8), secondo il quale per un microrganismo esiste un range di temperatura all'interno del quale è vitale. L'attività biologica aumenta con la temperatura fino a raggiungere un optimum, oltre il quale si ha un calo delle funzioni vitali, più brusco di quanto sia stato l'aumento. Ciò dovuto alla denaturazione delle proteine e alla distruzione della membrana cellulare.

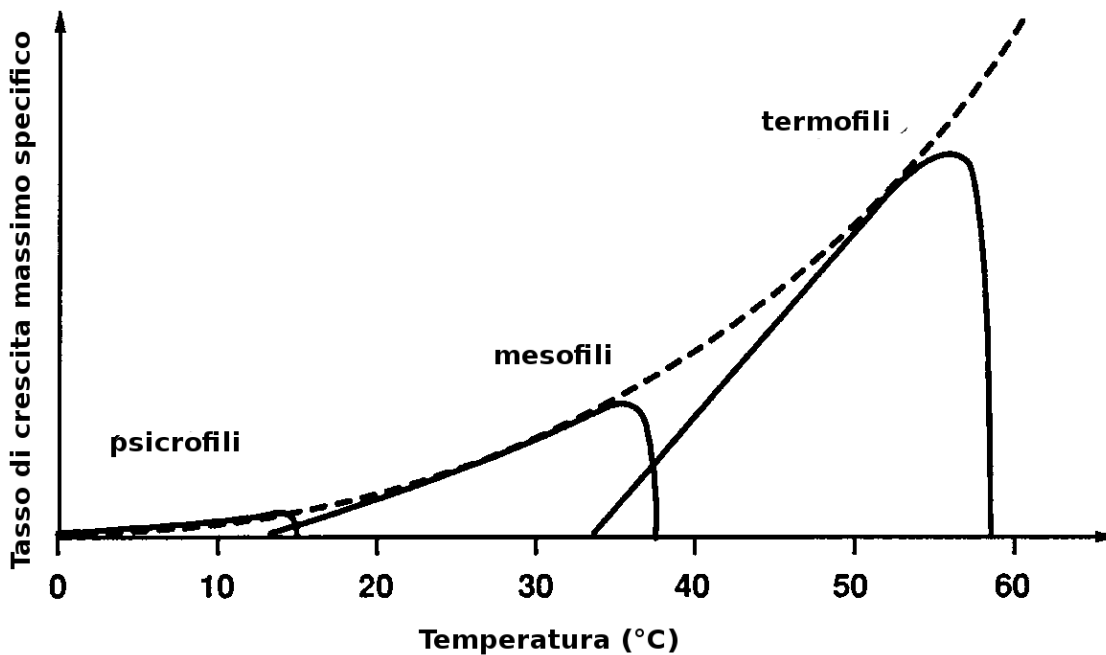


Immagine 4.9 Curve di Arrhenius a confronto per le tre categorie di microrganismi basate sull'optimum di temperatura.

Ogni specie ha il suo range di sopravvivenza e il proprio optimum, ed in base a questi valori vengono divisi in:

Psicrofili: l'optimum è fra i 10°C e i 20°C, rimangono vitali da 0°C o meno fino a 25°C. Alcuni organismi, detti psicrofili facoltativi, sebbene abbiano l'optimum fra 25°C e 30°C sono vitali anche a 0°C;

Mesofili: optimum fra 25° e 40°C. Sono gli organismi di maggiore interesse per il biorimedio in quanto tali sono le temperature medie delle matrici ambientali, specie per suoli e sedimenti che, negli strati più profondi, sono caratterizzati da una resilienza termica che mantiene la loro temperatura grossomodo costante nel corso dell'anno;

Termofili: Optimum oltre i 45°C, la membrana cellulare ricca in grassi saturi consente loro di sopravvivere a tali temperature. Suoli nudi in un mezzogiorno estivo possono raggiungere i 50-70°C, quindi tali microrganismi possono destare un certo interesse.

4.8.1.2 pH

Il pH condiziona gli equilibri di reazione e trasporto all'interno della cellula. La maggior parte delle matrici ambientali è compresa dell'intervallo da 5 a 9, e questo è l'intervallo di tolleranza della maggior parte dei microrganismi, con optimum fra 6.5 a 7.5 (*neutrofili*; si definiscono anche batteri *acidofili* (optimum a pH acidi) e *basofili* (optimum a pH basici). Il controllo del pH può essere necessario, ad esempio attraverso l'aggiunta di tamponi, quando i prodotti finali dell'attività biologica che sono espulsi dalla cellula tendono ad modificare il pH ed allontanare la comunità dal suo optimum.

4.8.1.3 Contenuto in umidità

Il contenuto in umidità in suoli influenza la biodisponibilità degli inquinanti, il trasferimento di gas e la vitalità cellulare. È solitamente definita come percentuale gravimetrica o capacità di campo. I sedimenti sono saturi d'acqua e questo determina

l'assenza di spazi interstiziali in cui l'aria può diffondere e quindi un trasferimento dell'ossigeno modesto.

La disponibilità effettiva dell'acqua in un sistema è definita in biologia dal parametro attività dell'acqua:

$$a_w = \frac{RH}{100} = \frac{P_w}{P_w^0}$$

RH : Umidità relativa;

P_w^0 : Pressione di vapore di acqua pura alla temperatura del sistema;

P_w : Pressione di vapore all'equilibrio con l'acqua nel sistema

Questo parametro definisce la componente dell'acqua che è disponibile per gli organismi per date condizioni di salinità, o di altri costituenti solubili del corpo idrico che tendono ad idratare le proprie molecole. L'attività dell'acqua marina è di 0.98.

4.8.1.4 Nutrienti

Il carbonio è l'elemento più abbondante nel materiale protoplasmico di una cellula, costituendone circa il 50% della massa a secco. Gli altri elementi maggioritari sono idrogeno ossigeno ed azoto. Questi quattro elementi costituiscono da soli il 95% della massa delle cellule viventi e sono per questo detti elementi quaternari. La struttura chimica di un batterio è spesso espressa come $C_5H_7O_2N$. Del restante 5% in massa, il 70% è dato da fosforo e calcio. Gli altri elementi, seppure indispensabili, sono necessari in tracce.

Elemento	Frazione d.w. (%)
Carbonio	50
Ossigeno	20
Azoto	14
Idrogeno	8
Fosforo	3
Zolfo	1
Potassio	1
Sodio	1
Calcio	0.5
Magnesio	0.5
Cloro	0.5
Ferro	0.2
Altri	0.3

La richiesta di carbonio può essere soddisfatta dal catabolismo di substrati organici, come contaminanti organici, nel caso degli organismi eterotrofi. Gli autotrofi ottengono il carbonio da processi di sintesi a partire da fonti inorganiche: biossido di carbonio,

carbonati e bicarbonati. Idrogeno ed ossigeno sono ottenuti dall'acqua e dalla respirazione. Gli elementi che più frequentemente si trovano nell'ambiente in difetto rispetto alla richiesta della cellula sono azoto e fosforo, mentre gli altri elementi sono richiesti in quantità così basse che raramente costituiscono un fattore limitante.

Il fattore limitante è, sia su scala di organismo che di popolazione e comunità, il nutriente più scarso rispetto alla richiesta del sistema biologico. Secondo la **legge del minimo di Liebig**, elaborata nel campo dell'agricoltura e poi allargata a tutte le discipline biologiche e biologiche, il tasso di crescita di un sistema biologico non è dato dalla somma delle risorse fornite, ma dalla quantità della risorsa più scarsa rispetto alla richiesta del sistema. Solo un nutriente per volta può essere limitante, e quando questo cessa di essere in difetto, allora è l'altro elemento più scarso rispetto alla richiesta a diventare limitante. L'accezione di questa affermazione può essere espansa includendo anche gli accettori di elettroni come fattore limitante e sostituendo il concetto di quantità con quello di biodisponibilità. Anche se un nutriente è scarso, come azoto e fosforo, la biodegradazione può continuare, ma ad un tasso rallentato. Questo perché le nuove cellule potranno crescere solo assimilando i nutrienti provenienti dalla degradazione delle cellule morte.

Esistono inoltre fattori di crescita, ovvero sostanze organiche quali aminoacidi vitamine peptoni ecc. richiesti da alcune specie microbiche. Non si tratta di nutrienti indispensabili, ma la loro presenza stimola molto la crescita degli organismi che ne necessitano.

4.8.1.5 Potenziale Redox e disponibilità di accettori di elettroni

Il potenziale redox è il sistema di misura per definire quanto siano ossidanti o riducenti le condizioni ambientali. Si usa il simbolo E_H , negativo per ambienti riducenti e positivo per quelli ossidanti. I valori ambientali possono andare da +800 mV (elevate concentrazioni di O_2 , senza processi di rimozione del O_2^- , fino a -400mV (elevate concentrazioni di H_2). Il potenziale redox è legato alla concentrazione di accettori di elettroni quali l'ossigeno e determina quindi la via metabolica (respirazione aerobica, anaerobica, fermentazione) predominante in quel sistema. La correlazione fra vie metaboliche e potenziale redox non è diretta poiché la presenza di particolari ossidanti può determinare il metabolismo indipendentemente dal potenziale. Respirazione aerobica e denitrificazione sono le vie degradative che assicurano il più veloce abbattimento delle molecole organiche e si cerca generalmente di favorire queste due (Suthersan, 1999).

Tuttavia l'ossigeno è un gas con bassa solubilità in acqua (8-10 mg/l) di conseguenza la sua disponibilità nei suoli è molto bassa e viene consumato velocemente quando è innescato un processo di degradazione aerobica. Gli accettori di elettroni nella respirazione anaerobica non presentano, essendo degli ioni solubili, gli stessi problemi di disponibilità e gli IPA vengono degradati anche attraverso questi processi. Tuttavia i degradatori anossici di IPA (denitrificanti e solfatoriducenti eterotrofi) degradano il substrato più lentamente e rischiano di subire forte competizione per l'accettore di elettroni da parte dei litotrofi (denitrificanti e solfatoriducenti chemoautotrofi). Lei et al. (2005) hanno studiato l'azione degradativa di batteri autoctoni in campioni di sedimenti fluviali da siti contaminati, per via respirometrica, in aereobiosi ed anaerobiosi. Ne era emerso che:

1. In denitrificazione non era stato rilevato un apprezzabile abbattimento degli IPA, mentre c'è stato un aumento degli ioni solfato rispetto ai solfuri. Si può quindi dedurre che nella competizione per l'accettore di elettroni i denitrificanti solfuro-ossidanti hanno prevalso sui denitrificanti degradatori di IPA;
2. In solfatoriduzione (questo era il primo esperimento sulla degradazione di IPA a

carico dei solfatoriduttori) l'unico IPA apprezzabilmente degradato è stato il fenantrene.

4.8.2 Capacità metaboliche delle popolazioni

Una comunità microbica può non essere in grado di degradare gli inquinanti perché le condizioni ambientali sono sfavorevoli all'attivazione delle vie metaboliche. Due di queste condizioni sono la **presenza di carbonio facilmente assimilabile** e di **nutrienti inorganici**. Gli IPA dovrebbero costituire essi stessi la fonte di carbonio, ma si tratta di composti difficilmente biodegradabili, e gli organismi potrebbero necessitare di una fonte alternativa fino a che le vie metaboliche degli IPA non sono efficacemente attivate, oppure gli IPA potrebbero essere degradati solo per co-metabolismo. Queste sono solo le due più semplici delle possibili cause, che non tengono conto delle complesse dinamiche di una comunità, in cui ad esempio la fonte alternativa di carbonio può essere necessaria non ai batteri ma ai funghi che producono enzimi ligninolitici in grado di degradare gli IPA in composti facilmente assimilabili per i batteri, ecc.

Nel biorimedia, che verrà trattato nel capitolo successivo, esiste la tecnica di **biostimulation** che consiste nell'aggiunta al mezzo di uno degli elementi che sono fattori limitanti alla crescita della popolazione: accettori di elettroni, nutrienti, fattori di crescita, fonti alternative di carbonio. L'aggiunta di una fonte alternativa di carbonio (che può essere concime, fanghi di depurazione, etanolo ecc.) facilmente metabolizzabile può facilitare la proliferazione della comunità batterica e l'abbattimento degli idrocarburi, direttamente, o per cometabolismo. Può però succedere che si verifichi inibizione competitiva del substrato facilmente degradabile (aggiunto) rispetto agli IPA, e la degradazione di questi ultimi venga rallentata o comunque non accelerata.

Nello studio fatto da Lei et al (2005) sull'attività degradativa microbica in campioni da sedimenti fluviali, l'aggiunta di fonti alternative di carbonio (etanolo e acido acetico) non ha comportato apprezzabili variazioni nei tassi metabolici, in nessuna delle condizioni redox (aerobiosi, solfatoriduzione, denitrificazione).

Esiste l'eventualità che la comunità microbica autoctona di un sito non sia in grado di degradare un inquinante perché le vie metaboliche necessarie sono assenti nel pool genetico, o insufficienti, oppure l'inquinante può manifestare effetti tossici nei confronti della popolazione prima che il meccanismo degradativo possa essere indotto ed entrare in regime. Questo è molto frequente per siti precedentemente non contaminati, in cui la selezione naturale non ha comportato la diffusione di queste vie degradative: il tempo di turnover per sedimenti di acqua dolce contaminati da petrolio è intorno ai 3.3 anni o più, mentre alcuni studi registrano oltre 60 anni per sedimenti precedentemente incontaminati (Kanali e Harayama, 2000).

Questa inattitudine può manifestarsi non solo nell'incapacità a degradare gli inquinanti, ma anche nella tendenza a degradarli in composti più tossici di quelli iniziali, che inibiscono la comunità e/o causano un maggiore pericolo per la salute umana e l'ambiente: Juhasz et al. (1997) che hanno testato la biodegradazione aerobica di pirene da parte di *Burkholderia cepacia*, hanno notato che la degradazione si interrompeva dopo l'abbattimento di una fissata quantità di pirene, a prescindere dalla concentrazione iniziale nel mezzo. L'arresto è quindi stato imputato alla produzione, oltre una certa soglia corrispondente al dato consumo di pirene, di metaboliti che erano tossici per gli stessi degradatori.

Una soluzione è quindi procedere all'inoculo di popolazioni microbiche ritenute maggiormente adatte alla degradazione degli inquinanti, **bioaugmentation**. L'inoculo può consistere in popolazioni naturali prelevate da siti già contaminati, dove le attività degradative sono già in atto, (anche il compost e i fanghi da impianti di depurazione municipali e di raffinerie si sono mostrati efficaci); oppure da colture di arricchimento in laboratorio, in cui gli organismi naturali sono fatti crescere con consistenti concentrazioni di IPA nel mezzo in modo da favorire l'amplificazione dei geni per la degradazione; oppure da microrganismi geneticamente modificati, in cui i processi metabolici necessari sono stati inseriti *ad hoc*.

Le popolazioni inoculate si dimostrano efficaci non solo perché posseggono nel loro pool genetico le vie metaboliche necessarie, ma anche perché queste sono già state attivate dagli IPA presenti nel luogo di origine (naturale o di laboratorio) e non è necessaria una prima induzione degli enzimi degradativi.

Tuttavia l'inoculo può dimostrarsi inefficace. Questo perché, malgrado la capacità di usare gli inquinanti come fonte di energia e carboni, esiste una serie di fattori ambientali non previste, per cui gli organismi inoculati non sono competitivi rispetto a quelli autoctoni. I fattori possono essere di vario tipo: presenza di una fonte di carbonio alternativa per cui le popolazioni locali continuano a proliferare sottraendo l'accettore di elettroni a quelle inoculate, fenomeni di predazione, condizioni sfavorevoli di pH, temperatura, umidità, salinità, nutrienti ecc.

Data la grande varietà e la sinergia di questi fattori è molto difficile isolare in condizioni di laboratorio (che privilegiano gli r-strateghi rispetto ai K-strateghi) popolazioni che poi saranno competitive su campo, e ciò pone un forte dubbio sulla validità dello sviluppo di ceppi geneticamente modificati.

4.8.3 Biodisponibilità dell'inquinante

Un parametro più efficace rispetto alla concentrazione del substrato è la sua biodisponibilità, ovvero la quantità di substrato che è in condizioni di essere assimilato dai microrganismi. La biodisponibilità è un potente fattore limitante, tanto da essere considerata il vero collo di bottiglia del processo degradativo, anche in confronto alla concentrazione di ossigeno e ai tassi di degradazione metabolica (Haritash e Kaushilk, 2009).

La biodisponibilità, che può diminuire nel tempo a causa di fenomeni di:

1. **Abbattimento:** la concentrazione del substrato diminuisce perché è degradato dai processi biologici;
2. **Sequestro:** il substrato si deposita o entra in un microporo dove non è più spazialmente raggiungibile dai microrganismi;
3. **Complessazione:** il substrato forma complessi insolubili con altre specie chimiche presenti nel mezzo, divenendo non più disponibile agli organismi.

Gli IPA sono composti apolari che tendono a ripartirsi nella fase solida ed organica, dove non sono disponibili ai microrganismi. Gli idrocarburi pesanti sono quelli che maggiormente tendono ad assorbirsi sulle particelle solide, quindi alla resistenza ai processi metabolici si aggiunge la difficoltà da parte dei batteri ad assimilarli. Le proprietà del suolo e del sedimento che possono influenzare la ripartizione sono il contenuto in materiali umici, la capacità di scambio cationico, la porosità ecc. Si stima che l'umina sia il

materiale in cui tendono maggiormente a ripartirsi gli IPA. Va comunque preso in considerazione il fatto che l'inquinante ripartito nella fase solida ed organica può essere stabilmente sequestrato e non rappresentare più un pericolo per l'ambiente e la salute umana.

Infatti il genere *Mycobacterium* è fra quelli maggiormente utilizzati non solo per una buona capacità nel metabolizzare gli IPA dai quattro anelli in su, ma anche perché è fornito di membrane cellulari eccezionalmente lipofile che ne facilitano l'uptake.

4.8.3.1 Soluzioni per l'aumento della biodisponibilità degli IPA

Trattamento termico. L'aumento di temperatura diminuisce il coefficiente di ripartizione suolo-acqua degli IPA del 20-30% ogni 10°C, fra 5°C e 45°C, comporta quindi il desorbimento degli IPA. Si tratta però di una tecnica costosa, potenzialmente dannosa e difficilmente praticabile per trattamenti *in situ*.

Aggiunta di **solventi** e **surfattanti**. La solubilizzazione degli idrocarburi dovrebbe teoricamente renderli più biodisponibili alla comunità microbica, ma questa tecnica ha fornito risultati discordanti nelle varie prove, segnale che altri fattori vanno presi in considerazione. I composti chimici possono inoltre effetti tossici sui microrganismi (rottura della membrana fosfolipidica) e comportare un inquinamento aggiuntivo dell'ecosistema. Rispetto ai surfattanti ionici, i surfattanti non ionici, composti da lunghe catene etossiliche, hanno minori effetti tossici sulle popolazioni microbiche, e possono costituire fonte di carbonio.

I biosurfattanti sembrano una soluzione più efficace, economica ed ecologica.

Inoculo (**bioaugmentation**) di batteri produttori di **biosurfattanti** con oli leggeri. *Pseudomonas aeruginosa* è un naturale produttore di biosurfattanti, oltre che degradatore del fenantrene, ma esistono altri ceppi ed alcuni possono essere ottenuti con l'ingegneria genetica. Può succedere che i biosurfattanti non migliorino la biodisponibilità degli IPA poiché questi rimangono intrappolati nelle micelle, bisogna quindi procedere all'inoculo di batteri che degradano i biosurfattanti (Chaunan et al. 2008).

È inoltre studiato il fenomeno della **chemiotassi**, particolarmente interessante quando l'inquinante non è disponibile perché spazialmente distante, a livello macro o microscopico, rispetto ai microrganismi degradativi. Si definisce chemiotassi il fenomeno per cui cellule e microrganismi si muovono lungo un gradiente chimico, per allontanarsi dalla fonte della sostanza (chemiotassi negativa) o avvicinarsi (chemiotassi positiva). Esistono esempi di chemiotassi positiva, nel genere *Pseudomonas* e *Ralstonia*, per fornire un paio di esempi, che hanno chemiotassi positiva per quanto riguarda gli IPA. Riuscire a sfruttare questa caratteristica e fare sì che le popolazioni batteriche si muovano attivamente nei punti di maggiore concentrazione degli inquinanti potrebbe aumentare l'efficacia degli interventi di biorimediazione. In *Pseudomonas putida* i geni per la chemiotassi verso fonti di naftalene e salicilato sono stati trovati sui plasmidi. Ulteriori studi sono però richiesti per capire se i geni per la chemiotassi e la metabolizzazione di tali composti siano allocati sullo stesso plasmide. (Samanta et al. 2002).

Si interrompe la trattazione teorica sugli IPA e la loro degradazione per discutere su quale sia la situazione nazionale in materia di sedimenti e di come la BIO₂REMEDIATION® possa essere collocata in tale quadro. Vedremo che tale tecnologia, assieme a tutte quelle di rimedio dei sedimenti, debba essere ancora collocata fra quelle sperimentali, in un panorama nazionale ed internazionale che fa ancora largo uso del dragaggio.

5. LEGISLAZIONE NAZIONALE IN MATERIA DI SEDIMENTI

Lo studio degli IPA e degli altri inquinanti nei sedimenti al fine di produrre standard di qualità condivisi è particolarmente difficile, trattandosi di matrici complesse in cui fenomeni di speciazione, seppellimento, adsorbimento ecc. possono cambiare la disponibilità e quindi il rischio associato ad una categoria di contaminanti.

5.1 Gestione dei sedimenti e standard di qualità

L'attuale normativa italiana in materia dei sedimenti è implementazione della **Direttiva europea 2000/60/CE** (Direttiva quadro sulle acque, **COM 2000**) che istituisce un quadro per l'azione comunitaria in materia di acque e sedimenti acquatici. L'obiettivo posto dalla direttiva è quello di limitare la presenza di contaminanti a concentrazioni superiori a quelle considerate *di sicurezza* in riferimento alla salute dell'uomo ed alla protezione ambientale. Cambia inoltre lo scopo della gestione delle acque dalla scala locale a quella di bacino idrografico e richiede lo sviluppo di piani di gestione del bacino idrografico (*River Basin Processes and Management*, **RBPM**) per migliorare lo stato ecologico. Questi distretti di bacino dovrebbero considerare diversi aspetti della gestione su scala di bacino, sociali, economici ambientali. Inoltre dovrebbero essere considerate diverse pressioni che possono produrre impatto ambientale, come apporti di nutrienti, sostanze pericolose e materia organica, pesca commerciale, prelievi o apporti dovuti alle industrie, specie aliene e cambiamento idromorfologico. Le raccomandazioni per la gestione integrata delle zone costiere (*Integrated Coastal Zones Management*, **ICZM**) richiedono coerenza fra le decisioni politiche settoriali, pianificazione e gestione, e una migliore coordinazione fra le azioni intraprese nella gestione delle interazioni mare-terraferma. L'adozione della strategia europea per i mari (COM 2002) e la recente proposta di produrre una direttiva quadro sulle acque marine potrebbero condurre i criteri e la filosofia di gestione delle acque dolci e della terra ferma verso la gestione degli ambienti marini, costieri ed estuarini (Apitz et al., 2007)

La direttiva quadro sulle acque è stata recepita in Italia dal **Decreto Legislativo n.152 del 3 aprile 2006** "Norme in materia ambientale". In questo decreto legislativo, che si pone come testo unico per la legislazione ambientale non era individuabile nessuna indicazione sui sedimenti, mentre il **Decreto Ministeriale 367 del 2003**, abrogato dal D.lgs 152/2006, stabiliva, oltre a degli standard di qualità per le acque, differenziati tra acque dolci, marine e lagunari, anche degli standard di qualità per i sedimenti marino-costieri. I risultati analitici, qualora superiori agli standard "*concorrono all'individuazione delle misure da intraprendere ai fini della tutela di detti corpi idrici*". Questo decreto poneva limiti di concentrazione dei contaminanti nei sedimenti addirittura più restrittivi di quelli individuati dalla classe A del Protocollo d'Intesa del '93. Del Protocollo d'Intesa del '93 si parlerà in seguito.

Successivamente il 152/2006 è stato corretto ed integrato, per quanto riguarda gli standard di qualità dei sedimenti acquatici, dal **Decreto Legislativo 16 gennaio 2008 n. 4** e dal **Decreto Legislativo 14 aprile 2009 n. 56**.

Il **Decreto Legislativo 14 aprile 2009 n. 56** recepisce inoltre parte della Direttiva Europea **2008/105/CE** che definisce standard di qualità ambientale per le 33 sostanze prioritarie individuate dalla decisione **2455/01/CE** e per altre 8 sostanze individuate dalla Direttiva Europea **76/464/CE**. Tali standard di qualità ambientale rappresentano il buono

stato chimico dei sedimenti idrici superficiali, che deve essere raggiunto da tutti gli stati membri, per i rispettivi corpi idrici, entro il 2015.

La normativa europea quindi pone come obbligatori per tutti gli stati membri gli standard di tutte le 33 sostanze elencate. È concesso uno scostamento del 20% dal valore comunitario per incertezze legate alla misura e alla complessità della matrice.

Inoltre ogni stato deve elaborare standard aggiuntivi specifici, relativi alla presenza di contaminanti nei bacini idrografici, per il raggiungimento anche del buono stato ecologico dei corpi idrici. La normativa italiana adotta gli stessi standard di quella europea per tutte le 33 sostanze prioritarie e per i sedimenti definisce standard nazionali relativi a sostanze non presenti fra quelle prioritarie, come PCB e arsenico.

Nel caso in cui vi sia un superamento dello standard del sedimento (anche nel caso in cui la colonna d'acqua sia conforme agli standard individuati) per le sostanze dell'elenco di priorità (Tabella 5.1), è obbligatorio utilizzare saggi biologici per valutare in maniera scientifica gli effetti sull'ecosistema ed anche avviare indagini ulteriori per verificare gli effetti sulla salute umana.

Parametro		SQA -MA
Sostanze prioritarie	Metalli	mg/kg s.s.
	Cadmio	0.3
	Mercurio	0.3
	Nichel	30
	Piombo	30
	Organo metalli	µg/kg
	Tributilstagno	5
	IPA	µg/kg s.s.
	Benzo[a]Pirene	30
	Benzo[b]Fluorantene	40
	Benzo[k]Fluorantene	20
	Benzo[g,h,i]Perilene	55
	Indenopirene	70
	Antracene	45
Fluorantene	110	
Naftalene	35	

Parametro		SQA -MA
Sostanze prioritarie	Pesticidi	µg/kg s.s.
	Aldrin	0.2
	Alfa clorocicloesano	0.2
	Beta clorocicloesano	0.2
	Gamma esaclorocicloesano (lindano)	0.2
	DDT, isomeri 2,4 e 4,4	1
	DDD, isomeri 2,4 e 4,4	0.8
	DDE, isomeri 2,4 e 4,4	1.8
	Dieldrin	0.2
	Esaclorobenzene	0.4
Sostanze non prioritarie	Metalli	mg/kg s.s.
	Arsenico	12
	Cromo totale	50
	Cromo VI	2
	IPA	µg/kg s.s.
	IPA totali	800
	PCB e Diossine	µg/kg s.s.
Sommatoria T.E. PCDD, PCDF (Diossine e Furani) e PCB diossina simili	2·10 ⁻³	
PCB totali	8	

Tali standard sono riportati nel D.Lgs. 152/2006, Allegato 1 alla Parte Terza. Con SQA-MA si intende Standard di Qualità Ambientali sulla Media Annuale. Con s.s. invece si intende sedimento secco ed è in tutto e per tutto equivalente all'espressione d.w.

5.2 Gestione dei sedimenti portuali da Gennaio 2012

Il dragaggio dei sedimenti portuali era disciplinato dall'art. 1, comma 996 della Legge 296/2006 e relativo decreto attuativo **Decreto Ministeriale 7 novembre 2008**.

Questo articolo è stato recentemente sostituito dall'Articolo 48 della **Legge n. 27 24 marzo 2012** che è conversione del **Decreto Legge 24 gennaio 2012** (Disposizioni urgenti per la concorrenza, lo sviluppo delle infrastrutture e la competitività). L'articolo comporta alcune importanti novità rispetto alla legislazione precedente.

- È consentito il dragaggio all'interno di siti di interesse nazionale (SIN) precedentemente al progetto di bonifica, qualora l'opera di dragaggio non pregiudichi la buona riuscita di quella di bonifica. Il progetto di dragaggio deve essere sottoposto all'autorità portuale, o da altro ente competente quando questa non è presente. Il progetto deve essere successivamente approvato dal Ministero delle infrastrutture e dei trasporti, sotto il profilo della fattibilità economica, e il Ministero dell'ambiente e della tutela del territorio e del mare, sotto il profilo dell'impatto ambientale.
- La seconda importante novità concerne la possibilità di deposizione a terra dei sedimenti dragati. Se i parametri di contaminazione dei sedimenti, originari o successivi a trattamento, rispettano gli standard fissati dall'allegato 5 della parte IV del D.Lgs. 152/2006 (Tabella 5.3), e quelli del test di cessione relativo al D.M.

05/02/1998 (Tabella 5.2), essi possono essere disposti a terra, previo trattamento di desalinizzazione. La desalinizzazione non è necessaria qualora la falda sottostante sia già naturalmente salinizzata. La destinazione di recupero dei materiali deve essere indicata nel progetto di dragaggio o in quello di bonifica. L'ARPA locale provvede all'approvazione della disposizione a terra.

- Qualora i materiali dragati non risultino pericolosi, all'origine o dopo il trattamento, possono essere disposti in strutture di contenimento in ambito costiero che presentino uno strato di impermeabilizzazione, naturale artificiale o misto, che sia equivalente ad uno strato spesso un metro di materiale naturale con permeabilità uguale o inferiore a $1.0 \cdot 10^{-9}$ m/s. Esempi di tali strutture sono casse di colmata o vasche di raccolta.
- L'utilizzo del termine "pericolosi" associato ai sedimenti implica un importante elemento, la possibilità di considerare sedimenti seriamente inquinati come rifiuti (sebbene in questo articolo non sia apertamente dichiarato) e applicare la normativa in materia di classificazione dei rifiuti, che vengono ora regolamentati dal decreto del Ministro dell'Ambiente e della tutela del territorio e del mare del 7 novembre 2008. I sedimenti devono essere caratterizzati prima dell'intervento di dragaggio o bonifica.
- Il deposito temporaneo di materiali provenienti da operazioni di dragaggio o bonifica non deve superare i trenta mesi, e comunque in strutture impermeabili. Sono fatte salve le disposizioni adottate per la salvaguardia della laguna di Venezia, qualora non sia prevista di una diversa destinazione e gestione a terra dei materiali derivanti dall'attività di dragaggio.
- I materiali provenienti dal dragaggio dei fondali dei porti non compresi in siti di interesse nazionale, ai sensi dell'articolo 252 del decreto legislativo 3 aprile 2006, n. 152 e successive modificazioni, possono essere immersi in mare con autorizzazione dell'autorità competente nel rispetto di quanto previsto dall'articolo 109 (Immersione in mare di materiale derivante da attività di escavo e attività di posa in mare di cavi e condotte), comma 2, del decreto legislativo 3 aprile 2006, n. 152. Ovvero l'autorizzazione all'immersione viene rilasciata dalla regione, qualora non si tratti di aree protette nazionali.

Per il resto il decreto pone condizioni analoghe a quelle della normativa precedente:

- Materiali dragati che presentino all'origine, oppure a seguito di processo di trattamento, caratteristiche fisiche, chimiche biologiche compatibili con il sito di destinazione, possono essere reimmessi nei siti di appartenenza, allo scopo di ripascimento dei fondali, per formare terreni costieri o strati di capping.
- L'idoneità del materiale dragato viene verificata mediante apposite analisi da effettuare nel sito prima del dragaggio sulla base di metodologie e criteri stabiliti dal citato decreto del Ministro dell'ambiente e della tutela del territorio e del mare 7 novembre 2008. Il decreto di approvazione dei progetti autorizza la realizzazione degli impianti di trattamento e fissa le condizioni di impiego, i quantitativi e le percentuali di sostituzione in luogo dei corrispondenti materiali naturali e costituisce autorizzazione al recupero.

Tabella 5.2: Parametri di conformità per i test sull'eluato ai sensi del D.M. 5/2/1998

Parametri	Unità di Misura	Concentrazioni limite	Parametri	Unità di Misura	Concentrazioni limite
Nitrati	mg/l	50	Nichel	µg/kg	10
Fluoruri	mg/l	1.5	Vanadio	µg/kg	250
Solfati	mg/l	250	Arsenico	µg/kg	50
Cloruri	mg/l	100	Cadmio	µg/kg	5
Cianuri	µg/kg	50	Cromo totale	µg/kg	50
Bario	mg/l	1	Piombo	µg/kg	50
Rame	mg/l	0.05	Selenio	µg/kg	10
Zinco	mg/l	3	Mercurio	µg/kg	1
Berillio	µg/kg	10	Amianto	mg/l	30
Cobalto	µg/kg	250	COD	mg/l	30
Nichel	µg/kg	10	pH	Adimensionale	5.5<pH<12.0

Tabella 5.3: Concentrazione soglia di contaminazione nel suolo e sottosuolo

Numero	Composto	Colonna A Siti ad uso: verde pubblico, privato e residenziale. (mg/kg s.s.)	Colonna B Siti ad uso: commerciale ed industriale.(mg/kg s.s.)
Aromatici	19 Benzene	0.1	2
	20 Etilbenzene	0.5	50
	21 Stirene	0.5	50
	22 Toluene	0.5	50
	23 Xilene	0.5	50
	24 Σ organici (da 19 a 23)	1	100
Aromatici policiclici	25 Benzo[a]antracene	0.5	10
	26 Benzo[a]pirene	0.1	10
	27 Benzo[b]fluorantene	0.5	10
	28 Benzo[k]fluorantene	0.5	10
	29 Benzo[g,h,i]perilene	0.1	10
	30 Crisene	5	50
	31 Dibenzo[a,e]pirene	0.1	10
	32 Dibenzo[a,l]pirene	0.1	10
	33 Dibenzo[a,i]pirene	0.1	10
	34 Dibenzo[a,h]pirene	0.1	10
	35 Dibenzo[a,h]antracene	0.1	10
	37 Indenopirene	0.1	5
	37 Pirene	5	50
38 Σ IPA (da 25 a 34)	10	100	

Valori riferiti alla specifica destinazione d'uso dei siti da bonificare. Allegato 5 alla parte quarta del D.Lgs. 152/2006. Sono riportati solo gli inquinanti aromatici non alogenati.

6. GESTIONE DEI SEDIMENTI CONTAMINATI

Gran parte delle tecnologie di rimedio per sedimenti contaminati da composti organici sono mutate da quelle adottate per i suoli. I sedimenti purtroppo presentano l'evidente difficoltà di gestione di essere immersi in un ambiente acquatico, il che li rende difficili da raggiungere, trattare e monitorare per trattamenti *in situ*, e da prelevare per trattamenti *ex situ*. La movimentazione dei sedimenti rischia inoltre di riportare nella colonna d'acqua particolato carico di inquinanti, che, sospinto dalle correnti può andare a contaminare altri siti.

6.1 Tecnologie convenzionali

Allo stato attuale le tecnologie di gestione per sedimenti contaminati maggiormente utilizzate, sia a livello nazionale che internazionale, sono il dragaggio, il *capping* e la *monitored natural attenuation*. Nessuna di queste consiste in un intervento attivo dell'uomo al fine di ridurre la concentrazione degli inquinanti all'interno del sito.

6.1.1 Dragaggio e tecniche correlate

6.1.1.1 Dragaggio

Consiste nella rimozione fisica dei sedimenti contaminati. È la tecnica più costosa, che comporta la rimozione di una grande quantità di massa dall'ambiente, e di fatto non abbatte gli inquinanti ma li sposta in un altro sito. Ha subito recentemente grosse critiche riguardo la sua efficacia: presenta il rischio di risospensione degli inquinanti, all'aumento della loro biodisponibilità, e non tutti i siti hanno una morfologia idonea (troppo profondi, con ostacoli fisici ecc.). È ovviamente una tecnica invasiva ad elevato impatto ambientale. Sebbene sia il metodo più utilizzato e comporti almeno in linea teorica la definitiva rimozione degli inquinanti dall'ambiente, non è considerata da solo una tecnologia efficace. Devono seguire misure di trattamento o confinamento dei sedimenti dragati, e per questo può essere considerata complementare a tecnologie di rimedio *ex situ* (Perelo, 2010).

6.1.1.2 Escavazione a secco

Del tutto analogo al dragaggio, consiste a sua volta nella rimozione fisica del sedimento, ma a secco, in seguito ad un processo di separazione della massa d'acqua. Prelevando un sedimento non immerso nella colonna d'acqua i rischi di risospensione e migrazione degli inquinanti sono minimizzati. Ha le stesse limitazioni ed efficienze del dragaggio, coi costi e le complicazioni aggiuntive della necessità di portare e mantenere il sedimento a secco (Perelo, 2010).

6.1.2 Capping e tecnologie correlate

6.1.2.1 Capping

Consiste nel coprire il sedimento contaminato con materiale pulito, quindi isolando il sistema dall'ecosistema bentonico e dalla colonna d'acqua. Non interviene quindi sulla concentrazione locale dei contaminanti ma sulla loro biodisponibilità.

Il materiale solitamente utilizzato è la sabbia, ma si può ricorrere anche ad altri materiali naturali e sintetici. Zeoliti pretrattate con surfattanti cationici possono diventare potenti agenti di assorbimento dei contaminanti, oltre ad avere ottime caratteristiche granulometriche. Materiali organici come cellulosa, emicellulosa, lignina e sostanze umiche, sottoposti a trattamento termico con acqua, che ne aumenta la condensazione e

all'aromatizzazione, diventano dei potenti materiali assorbenti, efficaci e convenienti.

Si tratta di un intervento meno costoso e invasivo rispetto alla rimozione del sedimento. Richiede però lunghi periodi di monitoraggio, e presenta il rischio che il contaminante rimanga biodisponibile. Nella fase di deposizione dello strato isolante il sedimento contaminato può essere risospeso nella colonna d'acqua oppure mescolarsi al materiale pulito. L'intervento diventa difficoltoso per acque profonde o dove il traffico di barche e navi è intenso. I rischi nel lungo termine sono all'erosione dello strato isolante, la diffusione degli inquinanti nel materiale pulito, la creazione di canali e flussi preferenziali nel sedimento che aggirano lo strato isolante (Perelo, 2010).

6.1.2.2 Stuoie geotessili

I geotessili sono materiali geosintetici permeabili, integri o tessuti, nella forma di mantelli flessibili, solitamente composti di polipropilene o altre materie plastiche. L'assenza di leganti chimici rende questi materiali, seppure sintetici, atossici. I loro principali utilizzi sono filtrazione, separazione, rinforzo e drenaggio.

Vengono usati anche nel capping. Possono stabilizzare lo strato di isolamento vero e proprio, od essere arricchiti con agenti di degradazione o adsorbimento per gli inquinanti. all'efficacia nell'isolamento dei geotessili è maggiore rispetto a quella dei normali materiali di capping e il loro utilizzo consente anche la deposizione di uno strato di materiale reattivo (Perelo, 2010).

6.1.2.3 Miscelazione del sedimento con agenti assorbenti

La biodisponibilità degli inquinanti nei sedimenti viene ridotta attraverso la loro miscelazione con agenti assorbenti. I materiali possono essere coke e carboni attivi, ma sono i carboni attivi quelli più efficaci. La concentrazione degli IPA biodisponibili può essere ridotta del 84% (Perelo, 2010).

6.1.3 Monitored natural recovery (MNR)

Definita anche *Monitored natural attenuation* (MNA) è attualmente l'unica tecnica *in situ* applicata ai sedimenti. Ingiustamente etichettata come approccio del "non far niente", consiste nel monitoraggio sul lungo periodo dell'abbattimento dei contaminanti operata dall'ecosistema stesso, attraverso processi biologici e chimico-fisici. È messa in atto quando la caratterizzazione del sito ne conferma la fattibilità. I processi che hanno luogo vengono distinti in distruttivi, in cui il contaminante è completamente rimosso, e non distruttivi, in cui ne viene solo abbassata la concentrazione. Nella *natural attenuation* gli inquinanti possono essere effettivamente abbattuti, attraverso processi chimici, ma soprattutto biologici (biodegradazione). Oppure ne può essere ridotta la biodisponibilità attraverso il seppellimento dei sedimenti contaminati, o adsorbimento dei contaminanti sulla superficie delle particelle di sedimento. I sedimenti possono poi essere rimossi attraverso erosione e abbandonare il sito, per poi andare a depositarsi in un altro adiacente. Si applica soprattutto a contaminanti organici. Richiede tempi piuttosto lunghi rispetto alle altre tecnologie di rimedio, dell'ordine di anni, e la necessità di mantenere attivi programmi di monitoraggio per periodi prolungati genera comunque dei costi. Proprio per i tassi di abbattimento ridotti, c'è il rischio che il zona di contaminazione si espanda. (Khan et al., 2004).

La MNR è una tecnologia più economica rispetto a capping e dragaggio, le altre tecnologie convenzionali, ed è consigliata per siti moderatamente inquinati ma da grande estensione, su cui un intervento attivo sarebbe troppo costoso. Rappresenta un'alternativa

valida quando è ammissibile una decontaminazione in tempi molto lunghi, quindi per siti distanti o isolati da importanti recettori umani e ambientali (Perelo, 2010).

6.2 Tecnologie di rimedio

Le tecnologie precedentemente viste non prevedono una vera e propria riduzione della concentrazione di inquinanti all'interno dell'ambiente contaminato, ma una rimozione fisica del materiale o la riduzione di biodisponibilità del contaminante, spaziale o chimica. Sistemi efficaci e convenienti di bonifica dei sedimenti inquinati stanno assumendo una sicura rilevanza, in quanto si presenta la possibilità di trattare sedimenti *in situ*, quindi a costi molto inferiori, oppure di trattare i materiali prelevati col dragaggio *ex situ*, per ottenere sedimenti che possono o essere ricollocati nell'ambiente di origine oppure smaltiti in discarica a costi ridotti.

Le tecnologie di rimedio sono finalizzate alla riduzione della concentrazione degli inquinanti nella matrice trattata. La scelta della tecnologia di bonifica più idonea si gioca sul compromesso fra la minimizzazione dei rischi ambientali e sanitari e la minimizzazione dei costi in termini di tempo lavoro e denaro. Sta assumendo rilevanza un terzo obiettivo: la minimizzazione dei rischi associati all'applicazione della stessa tecnica di rimedio (Perelo, 2010). La BIO₂REMEDICATION® può essere collocata all'interno delle tecnologie di rimedio.

Le tecnologie di rimedio, *in situ* ed *ex situ*, sono basate sullo sfruttamento di diversi fenomeni fisici chimici e biologici, che possono essere grossomodo suddivisi in (Ufficio di Piano ex DPCM 13 febbraio 2004, 2010):

1. **Degradazione** biologica, chimica, termica degli inquinanti nella matrice in forme non pericolose o meno pericolose;
2. **Separazione** o **estrazione** degli inquinanti dai sedimenti per mezzo di solventi o desorbimento termico;
3. **Riduzione del volume** di materiale inquinato attraverso la separazione delle particelle con più elevata tendenza a legarsi agli inquinanti (argille, materiale organico) dal resto della matrice;
4. **Immobilizzazione** fisico-chimica dei contaminanti alla matrice in modo che non possano essere biodisponibili e mobilizzati per erosione, volatilizzazione ecc.

6.2.1 Trattamenti termici

Sono trattamenti che consistono nell'abbassamento della concentrazione dei contaminanti attraverso diversi processi indotti dalle temperature elevate. In ordine crescente di temperatura, e quindi di grado di alterazione della matrice, se ne distinguono tre (Ufficio di Piano ex DPCM 13 febbraio 2004, 2010):

1. **Volatilizzazione** delle specie caratterizzate da elevata tensione di vapore: Desorbimento termico;
2. **Degradazione termica** in forme chimiche meno pericolose. Incenerimento, pirolisi, gassificazione, ossidazione ad alta pressione;
3. **Fusione della matrice** e intrappolamento nella massa fluida dei contaminanti. Vetrificazione, termodistruzione al plasma.

I trattamenti termici ovviamente creano una certa alterazione della matrice e richiedono misure di contenimento, controllo e trattamento dei gas prodotti e rilasciati.

6.2.1.1 4.5.1 Desorbimento termico

Si tratta di una tecnologia innovativa in cui il materiale è scavato, sottoposto a screening e scaldato in apposite stanze per provocare il rilascio degli organici e di alcuni metalli. Le temperature possono andare dai 100°C ai 600°C. I composti che vengono rilasciati dalla matrice nella fase aerea vengono quindi catturati e sottoposti ad ulteriore trattamento. Il trattamento quindi prevede solo il passaggio di fase dei composti, non alterazione della loro struttura chimica indotta dalla temperatura elevata. Se si registrasse ossidazione dei composti allora si parlerebbe di incenerimento. È un metodo efficace in quanto consente una rimozione degli inquinanti fino al 99% a impatto ambientale relativamente basso, in quanto è un trattamento *ex situ* che non comporta l'aggiunta di ulteriori composti chimici alla matrice. Elevati contenuti in umidità e frazione fine possono però ridurne all'efficacia (Khan et al., 2004).

Sistema di desorbimento termico a bassa temperatura a flusso parallelo rotativo

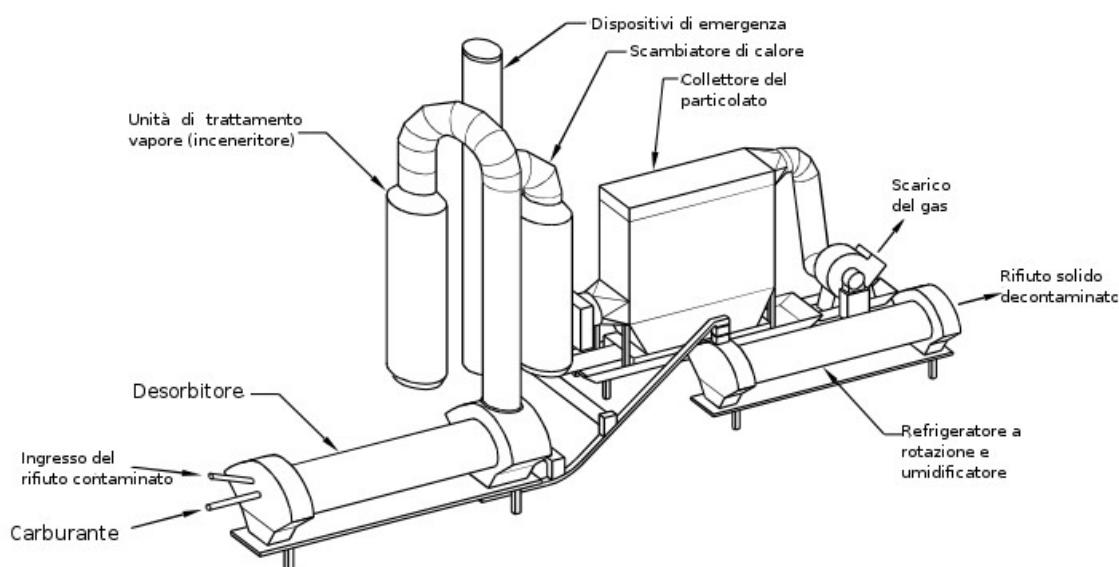


Immagine 6.1 Schema di un tipico impianto di desorbimento termico. **Fonte:** US EPA OSWER, 2004

6.2.1.2 Vetrificazione

La vetrificazione fa parte dei trattamenti di stabilizzazione/solidificazione, che prevedono la trasformazione della matrice in un monolite compatto in cui i contaminanti sono immobilizzati. Il metodo utilizza una potente fonte di energia per portare la matrice ad elevate temperature (1600-2000°C) che comportano la fusione della componente silicea e la trasformazione del materiale trattato in un monolite vetroso. I contaminanti vengono immobilizzati nella nuova matrice, stabile ed impermeabile, oppure volatilizzati o distrutti per pirolisi nel processo di fusione. L'energia può essere fornita per corrente elettrica (attraverso due elettrodi di grafite inseriti nel materiale), calore, o plasma, ottenuto da scariche elettriche che generano temperature di 5000°C e oltre (Khan et al., 2004).

6.2.2 Trattamenti chimico-fisici

I trattamenti fisici sono generalmente basati sul passaggio degli inquinanti dalla matrice

solida ad una matrice fluida (gassosa o liquida) che poi viene separata. I trattamenti chimici invece vedono la trasformazione dell'inquinante in una forma meno pericolosa o non pericolosa, oppure più mobile e facile da estrarre dalla matrice. Si possono usare in sinergia entrambi i tipi di trattamento.

Si tratta generalmente di trattamenti *ex situ* poiché richiedono spesso strutture adeguate e confinamento dei materiali e il processo in sé può presentare alcuni rischi ambientali: passaggio degli inquinanti alla fase gassosa o liquida che possono causare ulteriore inquinamento non sono presenti sistemi di raccolta; utilizzo di reagenti e solventi tossici e cancerogeni; produzione di intermedi di reazione più tossici dei composti di partenza. Pertanto i trattamenti *in situ* vengono generalmente applicati quando è la zona da trattare è confinata o confinabile rispetto al resto dell'ecosistema.

I trattamenti *ex situ* comprendono (Ufficio di Piano ex DPCM 13 febbraio 2004, 2010):

1. Estrazione con solventi;
2. Lavaggio dei sedimenti;
3. Dealogenazione;
4. Ossidazione/riduzione;
5. Stabilizzazione/Solidificazione;

I trattamenti *in situ* comprendono:

1. Neutralizzazione;
2. Precipitazione;
3. Ossidazione
4. Declorurazione.

Di seguito si discute dei metodi chimico fisici maggiormente utilizzati e che presentano maggiore interesse per quanto riguarda la gestione dei sedimenti all'interno della Laguna di Venezia

6.2.2.1 Sediment washing

Consiste nel lavaggio dei sedimenti attraverso agitazione meccanica, con acqua, a cui eventualmente sono aggiunti agenti estraenti quali solventi organici o surfattanti. I solventi vengono scelti sulla base della loro capacità di solubilizzare il contaminante, e sugli effetti per la salute umana e all'ambiente. Il processo tende a separare la frazione fine (limo e argilla) da quella grossolana (sabbia e ghiaia). Gli IPA tendono a legarsi alla frazione fine, quindi all'effetto complessivo è una riduzione del volume di materiale contaminato. La frazione fine così isolata può essere trattata con altri metodi, come incenerimento e biorimediazione o essere stoccata (Khan et al., 2004). Può essere adottato in trattamenti *ex situ* ed *in situ*. Il suo corrispettivo per i suoli, il *soil washing*, è la pratica consolidata, mentre i casi di applicazione del *sediment washing* sono ancora pochi. Eppure il *sediment washing* è almeno in linea teorica più facile ed economico da realizzare, in quanto i sedimenti sono più omogenei dei suoli e già con un elevato contenuto di umidità. I materiali, non essendo poi privati delle loro caratteristiche di sedimento, possono essere ricollocati nell'ambiente di origine (Ufficio di Piano ex DPCM 13 febbraio 2004, 2010).

La tecnologia è applicabile ad una grande varietà di contaminanti ed è considerata efficace in quanto riduce il volume di materiale che richiede trattamenti ulteriori. Presenta

però alcune criticità (Khan et al., 2004):

- Le miscele complesse di inquinanti richiedono più tipologie di solventi;
- È efficace per sedimenti e suoli con basso contenuto in argille e limo, in quanto i contaminanti organici adsorbiti su queste particelle sono difficili da rimuovere;
- È richiesto un pretrattamento per suoli contenenti acido umico;
- Non è un trattamento che distrugge o immobilizza gli inquinanti, peraltro i suoli risultanti devono essere disposti con cautela;
- La frazione fine e le acque di lavaggio richiedono ulteriori trattamenti.

La tecnologia di *soil washing* è utilizzata con buona diffusione commerciale in Europa ed è stata definita dall'EPA come un metodo innovativo, tra gli altri, per bonificare e ridurre la contaminazione in grandi siti industrializzati (*superfund mega sites*). Attualmente, negli Stati Uniti il *soil washing* è stato utilizzato in 6 superfund sites (Ufficio di Piano ex DPCM 13 febbraio 2004, 2010). Esistono anche esempi di applicazione nella Laguna di Venezia. Libralato e al. (2008) hanno effettuato analisi ecotossicologiche e chimiche su sedimenti dei canali di Porto Marghera sottoposti a sediment washing. Purtroppo, pur non conoscendo i valori di contaminazione dei sedimenti precedentemente al trattamento, i sedimenti lavati sono risultati, secondo il Protocollo d'Intesa del 1993, appartenenti a Classe C e oltre C, quindi di bassa qualità.

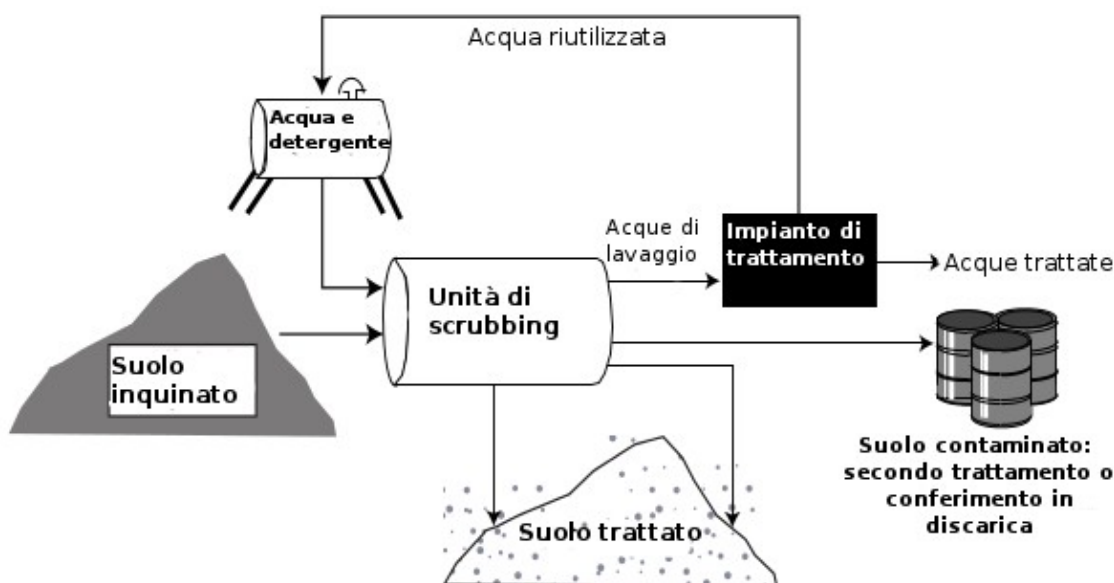


Immagine 6.2: Schema di un intervento di sediment washing. Fonte: US EPA OSWER, 2004

6.2.2.2 Stabilizzazione/solidificazione

Consiste nella riduzione di mobilità di sostanze pericolose attraverso trattamenti chimici o fisici che alterano la matrice originale. Si è già discusso della vetrificazione, che sfrutta temperature elevate per trasformare la matrice in materiale vetroso che immobilizza gli inquinanti all'interno della propria struttura rigida. Di seguito si discute invece dei trattamenti chimici (Khan et al., 2004).

Sono processi che vedono l'aggiunta di una matrice inerte al materiale contaminato, che immobilizza il contaminante attraverso una fissazione chimico-fisica e strutturale. ne

risulta un materiale compatto, ad elevata integrità strutturale, impermeabile. Il processo è diviso in due fasi:

Stabilizzazione: processo che riduce i rischi posti da un rifiuto o scarico attraverso la conversione del contaminante in una forma a ridotta solubilità, mobilità, tossicità.;

Solidificazione: la solidificazione invece consta nell'incapsulamento del rifiuto o matrice contaminata in un blocco monolitico di elevata stabilità strutturale. Necessita di mezzi di miscelazione del suolo e stoccaggio dei reagenti. La tecnologia viene solitamente applicata per contaminanti inorganici, come metalli pesanti, mentre ha efficacia limitata verso gli organici e i pesticidi (Khan et al., 2004).

Questi processi possono adottare sia reagenti e matrici inorganiche (cemento, argilla, calce) o organiche (materie termoplastiche, polimeri ecc). I trattamenti con materiali organici consentono la produzione di materiali più resistenti, densi e meno permeabili, ma gli elevati costi la rendono una soluzione meno diffusa rispetto al trattamento con materiali inorganici (Ufficio di Piano ex DPCM 13 febbraio 2004, 2010).

La miscelazione con asfalto è inoltre una delle tecniche idonee al trattamento di suoli contaminati da idrocarburi, poiché in grado di immobilizzarli in una matrice solida impermeabile all'acqua. La miscela ottenuta può quindi essere usata per la pavimentazione stradale. Prevede escavazione e pretrattamento termico, che comporta il rischio di evaporazione dei composti volatili.

I processi di solidificazione/stabilizzazione hanno alcune caratteristiche sfavorevoli (Khan et al., 2004):

Sono difficili e costosi per trattare ingenti volumi di suoli e sedimenti. Una grande profondità della zona contaminata può limitare all'efficacia del processo.

- I contaminanti organici spesso non sono immobilizzati, e sono quindi necessarie elevate temperature per distruggerli o farli evaporare.
- Alcuni tipi di rifiuto e scarico non sono compatibili con questo trattamento. Inoltre se il processo non è effettuato con le dovute accortezze può comportare un aumento del volume di inquinanti.
- Si presenta il rischio di percolamento (*leaching*) dei contaminanti dalla nuova matrice. Occorre un monitoraggio a lungo termine per assicurarsi che i composti siano stati effettivamente immobilizzati.

Il prodotto finale è comunque privato delle sue caratteristiche iniziali di suolo o sedimento e non può essere riutilizzato come tale.

6.2.2.3 Ossidazione chimica

Consiste nella degradazione degli inquinanti adottando reagenti altamente ossidanti. Si tratta di processi molto aggressivi e non selettivi, maggiormente adottati per le acque reflue e che successivamente si sono espansi alle matrici solide. Richiedono, per suoli e sedimenti, maggiori quantità di reagenti per compensare la naturale capacità tampone, dovuta alla presenza di carbonati, di queste matrici e frequentemente un trattamento preliminare di desorbimento, in quanto gli inquinanti organici tendono a legarsi alla matrice solida, oppure l'utilizzo di ossidanti o miscele di ossidanti in grado di degradare anche la matrice (Ufficio di Piano ex DPCM 13 febbraio 2004, 2010).

6.2.2.4 Elettrocinesi

Le tecnologie di elettrocinesi si basano sullo spostamento degli inquinanti lungo il materiale trattato per effetto dell'applicazione di un campo elettromagnetico. I fenomeni che causano lo spostamento lungo il campo elettromagnetico sono tre (Ufficio di Piano ex DPCM 13 febbraio 2004, 2010):

1. Elettromigrazione: trasporto di specie ioniche presenti in soluzione verso gli elettrodi;
2. Elettrosmosi: flusso di acqua attraverso il suolo o sedimento, generalmente verso il catodo;
3. Elettroforesi: trasporto di particelle e colloidali carichi sotto l'influenza del campo elettrico.

Dopo che i contaminanti sono stati trasportati verso l'elettrodo, questi vengono rimossi congiuntamente alla soluzione, la quale deve essere pertanto avviata al trattamento. Tale approccio risulta il più seguito quando i contaminanti sono metalli pesanti. Può essere effettuato *in situ*.

6.2.2.5 Flottazione

Consiste nella separazione delle sostanze idrofobe attraverso l'insufflazione di bolle dal basso all'interno di una miscela di acqua e sedimento. Sospinti dal moto delle bolle, i materiali flottabili tendono a salire verso l'alto, dove vengono raccolti. Pretrattamenti con complessanti flottabili della matrice la rendono una tecnica efficace anche per la rimozione dei metalli (Ufficio di Piano ex DPCM 13 febbraio 2004, 2010).

6.2.3 Trattamenti biologici

Si definisce *biorimedio* lo sfruttamento dell'attività biologica di un organismo o consorzio di organismi per trasformare gli inquinanti presenti in una zona contaminata in composti non pericolosi o meno pericolosi per l'ambiente e la salute umana. Questo approccio, quando più utilizzabile, si rivela molto più efficace ed economico rispetto a quelli convenzionali, che riguardano generalmente la rimozione e stoccaggio, o trattamento chimico o incenerimento del suolo o sedimento contaminato, sono costosi e comportano spesso uno spostamento o cambio di fase degli inquinanti più che una degradazione. Molta della metodologia associata al biorimedio *in situ* è attribuibile ai lavori di Richard all. Raymond e Sun Tech negli anni '70 (Suthersan, 1999), ed il biorimedio con microrganismi naturali è stato il maggiore meccanismo di rimozione del petrolio a seguito dello sversamento nello Stretto di Prince William da parte della *Exxon Valdez* nel 1990 (Samanta et al. 2002).

Oltre ad essere conveniente è una soluzione permanente, a basso impatto ambientale, che può portare alla completa mineralizzazione dei contaminanti. È applicabile con moderate concentrazioni di inquinante, dove i tradizionali metodi chimici e fisici non sono efficaci. I tempi del trattamento sono però più lunghi ed i risultati sono raramente prevedibili (Perelo, 2010). Il biorimedio consente un ampio reimpiego del materiale trattato in quanto non causa alterazione mineralogica della matrice sedimento.

I trattamenti di tipo biologico sono generalmente più efficaci in mezzi a permeabilità medio-alta, ma, in alcuni casi, in particolare per la degradazione anaerobica e/o anossica, si possono ottenere buoni risultati anche in sedimenti meno permeabili di matrice argillosa o limosa. In generale in corrispondenza di una granulometria più fine saranno richiesti tempi di trattamento più lunghi (Ufficio di Piano ex DPCM 13 febbraio 2004, 2010).

Per quanto riguarda l'intervento attivo dell'uomo al fine di aumentare la prestazione della degradazione biologica, le due tecnologie principali di biorimediazione, dalle quali si articolano tutte le altre, sono la *bioaugmentation* e la *biostimulation*.

La *biostimulation* consiste nell'aggiunta al mezzo di sostanze necessarie all'attività microbica che potrebbero trovarsi in carenza: nutrienti, fonti alternative di carbonio, fattori di crescita, ossigeno o altri accettori di elettroni, così da incrementare all'attività (Suthersan, 1999).

La *bioaugmentation* consiste nell'inoculo di popolazioni microbiche esogene, con specifiche attività cataboliche idonee alla degradazione degli inquinanti nell'ambiente preso in considerazione, per supportare le popolazioni autoctone e accelerare il processo di degradazione.

Questa tecnica ha presentato risultati contrastanti. Si è dimostrata efficace nei casi in cui la comunità microbica autoctona aveva scarse capacità degradative (caso tipico di siti precedentemente non contaminati), mentre in altri casi è stata ininfluenza sul tasso di degradazione complessivo. Il maggiore dei problemi legato all'intervento di *bioaugmentation* è appunto la sopravvivenza dei microrganismi inoculati. Vari fattori ambientali condizionano la loro crescita: pH salinità, temperatura, disponibilità di nutrienti, concentrazione degli inquinanti. Non ultime le dinamiche ecologiche (predazione, competizione) che possono impedire la proliferazione di organismi alloctoni in una comunità già formata. Il fattore chiave per una efficace *bioaugmentation* è quindi la scelta degli appropriati ceppi batterici.

Quindi, per aumentare all'efficacia e la prevedibilità di un intervento di *bioaugmentation* è necessario non limitarsi all'iniezione di una matrice presumibilmente ricca in batteri degradatori (come ad esempio, un fango di depurazione), ma selezionare i ceppi in base ai loro parametri di crescita per le condizioni ambientali del sito, alla loro tolleranza ai co-contaminanti (metalli ad esempio), alla relativa abbondanza delle popolazioni autoctone (Perelo, 2010).

La strategia si è dimostrata efficace soprattutto per contaminanti tipici delle attività antropiche, per cui le vie metaboliche di popolazioni naturali sono rare. L'inoculo di popolazioni microbiche appositamente selezionate introduce nel pool genetico della comunità la capacità di degradare contaminanti, e attraverso i fenomeni di coniugazione queste vie metaboliche possono estendersi alle specie locali. Esistono infatti strategie basate sull'inoculo di specie donatrici, incapaci di sopravvivere nel nuovo ambiente, ma che forniscono i plasmidi per il metabolismo degli inquinanti attraverso lo scambio orizzontale e consentono la creazione di transconiugati, ecologicamente competitivi ed in grado di degradare gli inquinanti (Perelo, 2010).

6.2.3.1 4.7.1 Bioreattori

Si tratta di un trattamento *ex situ* in cui suoli o sedimenti vengono escavati dal sito di origine, miscelati con acqua e additivi (nutrienti ad esempio) fino a formare un fango molto fluido, *slurry*. Il fango è quindi tenuto in agitazione all'interno di un reattore biologico. Normalmente si tratta di sistemi che lavorano in condizioni batch, con miscela acqua sedimenti, *bioslurry*, in miscelazione continua, con tempi di residenza di 2-12 settimane, al termine delle quali i solidi vengono separati dall'acqua e opportunamente stoccati (Ufficio di Piano ex DPCM 13 febbraio 2004, 2010). Grazie all'agitazione aumenta il contatto fra la fase acquosa e la superficie delle particelle di suolo o sedimenti, inoltre i valori di ossigeno, pH, temperatura, surfattanti, nutrienti possono essere facilmente e

rapidamente tenuti sotto controllo. Date queste condizioni di sicuro più favorevoli alla degradazione biologica rispetto a quelle ambientali, i tempi di degradazione sono rapidi rispetto agli altri trattamenti biologici, dell'ordine di mesi e la percentuale di degradazione può raggiungere valori più elevati.

Viene usato con efficacia per inquinanti organici non alogenati. È una tecnologia di facile implementazione. La costruzione e il mantenimento di reattori biologici ha raggiunto costi relativamente bassi, ma rimane pur sempre un intervento più dispendioso rispetto a tecnologie *in situ*, inapplicabile quando il volume da trattare è molto elevato. Purtroppo per materiali argillosi e non omogenei la degradazione può essere problematica. L'essiccazione finale dei fanghi è costosa e le acque raccolte richiedono un ulteriore trattamento o una speciale disposizione. I materiali che formano una fase separata (liquida apolare solitamente) devono essere preventivamente rimossi. Richiede inoltre un'accurata caratterizzazione del sito prima dell'intervento (Khan et al., 2004).

6.2.3.2 Landfarming

La tecnica consiste nell'escavazione dei terreni contaminati, che vengono disposti al di sopra del livello del suolo a formare uno strato sottile, non più di 1.5 m per i suoli, mediamente 15-20 cm per i sedimenti. Si tratta quindi di tecnologie *ex situ*. I processi di biorimediazione possono essere stimolati attraverso aerazione, aggiunta di nutrienti, sali minerali, acqua e loro miscele, inoculo di popolazioni batteriche selezionate. Il suolo o il sedimento deve essere ben mescolato per aumentare il contatto fra gli inquinanti e i microrganismi e il flusso di ossigeno. A intervalli regolari può essere aggiunto altro materiale contaminato, per mantenere i processi di degradazione degli inquinanti attivi.

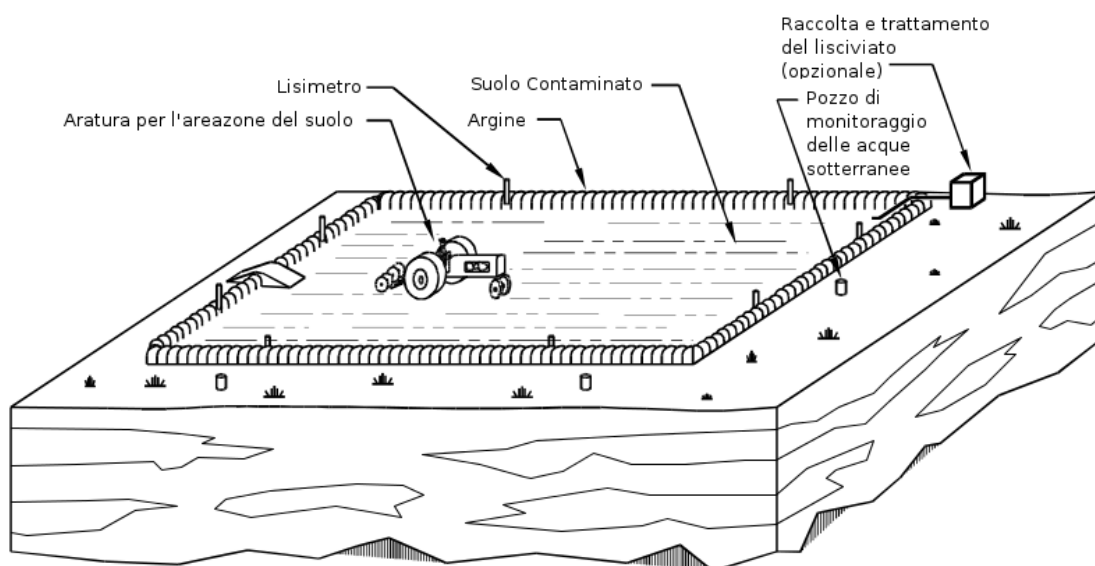


Immagine 6.3: Tipico schema di allestimento di un intervento di landfarming. **Fonte:** US EPA OSWER, 2004

Le criticità sono quelle tipiche del biorimediazione: gli idrocarburi pesanti vengono degradati con difficoltà e percentuali di abbattimento oltre il 95% degli idrocarburi in generale sono difficili da raggiungere. Quelli volatili invece, potrebbero abbandonare il materiale trattato per semplice evaporazione, e quindi richiedono un pretrattamento. È quindi una tecnica prevalentemente usata per gli sversamenti da petrolio.

È richiesta una grande superficie di lavoro ed il materiale dovrebbe trovarsi a livelli

ottimali per la ploriferazione della comunità microbica in termini di temperatura, umidità, disponibilità di ossigeno, pH, nutrienti, tessitura, eccetera. La movimentazione potrebbe causare trasferimento degli inquinanti ad una zona precedentemente indisturbata. Per siti altamente inquinati potrebbe non essere efficace in quanto la comunità microbica viene inibita o non è in grado di degradare alcuni dei composti (Khan et al., 2004).

6.2.3.3 Biopile

Vengono definite anche biocelle, sono tecnologie *ex situ*. Il metodo sfrutta lo stesso principio del landfarming: biodegradazione microbica degli inquinanti organici assistita. Suoli e sedimenti non vengono stesi ma disposti in cumuli e pile, al di sopra di una piano isolante. Il piano isolante è preparato attraverso lo spandimento di uno strato non contaminato di 30 cm sopra una superficie impermeabile. Tubazioni perforate sono posizionate sullo strato di sedimento ad intervalli regolarmente spaziate. Uno strato di ghiaia di solito viene disposto sopra le tubazioni, e il sedimento dragato è preparato e collocato in pile alte da 240 a 360 cm. Le tubazioni quindi attraverso l'immissione o l'aspirazione di aria garantiscono il flusso di ossigeno nel materiale. Questo sistema è detto areazione forzata. L'attività biologica è incentivata anche attraverso l'aggiunta di nutrienti, acqua, correttori di pH, inoculo di popolazioni batteriche specializzate. Le pile possono essere rivestite con uno strato di materiale isolante in modo da prevenire lisciviazione e fuoriuscite di gas e tenere complessivamente tutti i parametri sotto un più efficace controllo. Gli inquinanti più leggeri possono abbandonare la matrice per semplice riscaldamento (solare e da attività biologica) e possono essere catturati per essere sottoposti ad ulteriore trattamento. Per questo nella ventilazione forzata si preferisce l'aspirazione alla immissione di aria poiché consente la raccolta del gas e quindi un loro controllo e eventuale trattamento (Ufficio di Piano ex DPCM 13 febbraio 2004, 2010).

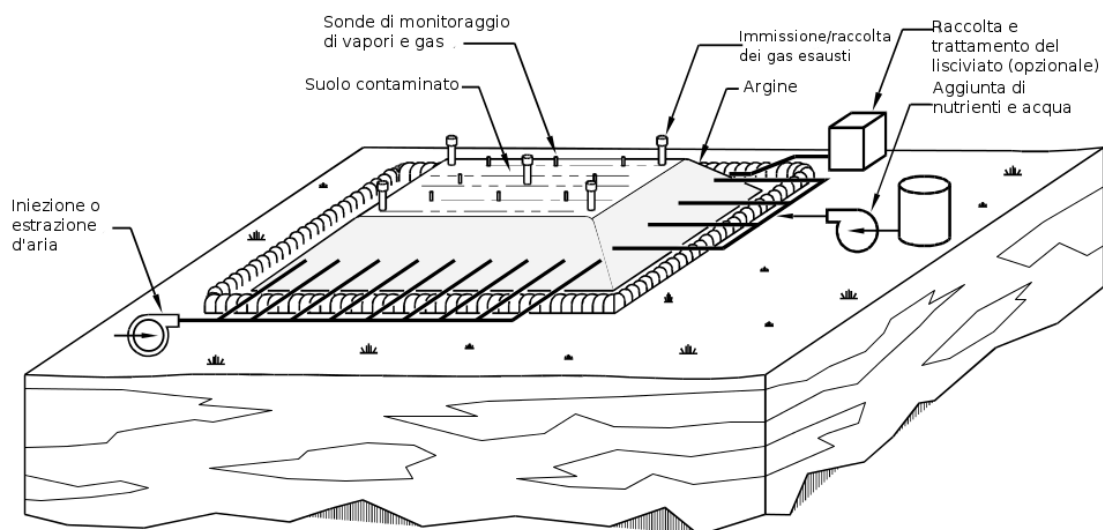


Immagine 6.4: Tipico schema di allestimento di un impianto di biopile. **Fonte:** US EPA OSWER, 2004

Rispetto al landfarming richiede un minore spazio (seppure ancora elevato) per l'allocazione della struttura, comunque semplice da allestire, ed i tempi di trattamento sono dell'ordine di mesi, fino a due anni massimo. Purtroppo percentuali di abbattimento oltre il 95% sono difficili da raggiungere, e concentrazioni troppo alte di contaminanti e copresenza di metalli possono inibire all'attività biologica. Il trattamento dei gas contenenti

contaminanti non degradati ma evaporati accresce il costo e la complessità dell'intervento. È meno efficace per suoli disomogenei e con elevata componente in frazione fine, che diminuisce la disponibilità di acqua e ossigeno (Khan et al., 2004).

6.2.3.4 Areazione

È un intervento del tutto analogo a quelli precedenti: il suolo da trattare viene disteso, spalmato, arato o rivoltato. La differenza sta nel fatto che non si cerca di incentivare i processi biologici attraverso l'areazione. L'areazione è lo scopo del metodo, attraverso la quale gli inquinanti abbandonano il suolo o il sedimento per passare alla fase aerea. L'incentivazione dell'attività degradativa microbica comunque avviene, se le altre condizioni sono idonee (umidità, pH, ecc.) ma è vista come un effetto collaterale del processo. Il metodo non può essere applicato in aree abitate, dove gli odori potrebbero risultare sgradevoli e quando si presentano rischi di incendio o per all'ambiente e salute umana (Khan et al., 2004).

6.2.3.5 Compostaggio

Si tratta di un trattamento *ex situ* in cui suoli e sedimenti sono disposti in cumuli o pile e viene incentivata l'attività degradativa microbica aerobica attraverso l'areazione, l'aggiunta di ammendanti organici e fonti di carbonio facilmente assimilabili, come la FORSU. Gli ammendanti organici sono tipicamente trucioli di legno, cortecce, paglia, che vengono aggiunti ai sedimenti per assorbirne l'umidità, aumentarne la porosità e per fornire una fonte di carbonio degradabile. Si cerca inoltre di mantenere alti i livelli di ossigeno nella matrice attraverso le tecnologie dei cumuli statici aerati, cumuli rivoltati e reattori chiusi. Quando la volatilizzazione dei contaminanti risulta pericolosa si provvede a chiudere l'aria di compostaggio o ad aspirare l'area dai cumuli in maturazione.

6.2.3.6 Biorimedio in CDFs (*Confined Disposal Facilities*)

La CDF è una unità di isolamento per materiale contaminato che viene rimosso dal sito di origine. In queste, unità, che sono spesso vasche di colmata per quanto riguarda i sedimenti, possono essere implementate tecnologie per il trattamento *off site* che può lavorare come un vero e proprio reattore biologico attraverso l'implementazione di tecnologie per l'aggiunta di ossigeno nutrienti ammendanti ecc (Ufficio di Piano ex DPCM 13 febbraio 2004, 2010).

6.2.3.7 Fitorimedio

Il fitorimedio sfrutta i processi di assimilazione accumulo e degradazione degli inquinanti di suole acque e sedimenti propri delle piante vascolari. Tutte le piante estraggono assieme ai nutrienti i metalli pesanti dagli ambienti contaminati. Alcune sono definite come iperaccumulatrici in quanto accumulano grandi quantità di metalli senza che questi siano usati nelle loro funzioni vitali. Il fitorimedio è stato particolarmente studiato per quanto riguarda la rimozione di metalli dai suoli, ma presenta qualche potenzialità anche sul fronte della degradazione degli IPA. Le funzioni principali attraverso cui le piante rimuovono gli inquinanti sono cinque, le quali definiscono altrettanti processi di fitorimedio. (Khan et al., 2004):

1. **Rizofiltrazione:** tecnica di rimedio delle acque in cui gli inquinanti sono trattenuti dalle radici;
2. **Fitoestrazione:** gli inquinanti sono assimilati dalle piante attraverso le radici e accumulati nei loro tessuti. Rappresenta una delle poche tecniche effettivamente valide per la rimozione dei metalli pesanti dalla matrice trattata;

3. **Fitotrasformazione:** le piante assimilano gli inquinanti e li degradano nei loro processi metabolici, direttamente o per cometabolismo;
4. **Fitostimolazione:** detta anche biorimedio assistito dalle piante, in cui la degradazione microbica locale è stimolata dalle attività biologiche delle piante nella zona radicale;
5. **Fitostabilizzazione:** le piante riducono la capacità degli inquinanti di migrare nel suolo o nel sedimento attraverso il rilascio di sostanze adsorbenti o chelanti.

Il fitorimedio dei contaminanti organici nei sedimenti non si basa sull'accumulo da parte delle piante (tipico, invece, per i metalli) ma su **fitotrasformazione** e **fitostimolazione**. Possono essere usate non solo piante vascolari ma anche alghe. Gli effetti del fitorimedio sono protratti nel tempo, anche dopo la morte delle piante, in quanto gli enzimi rilasciati, possono continuare a degradare gli inquinanti direttamente o stimolare la comunità microbica. (Perelo, 2010). La tecnica è applicabile ad una grande varietà di inquinanti e ha basso impatto ambientale, in quanto la produzione di rifiuti è minima, non c'è escavazione e da un punto di vista paesaggistico risulta gradevole.

La strategia è stata applicata soprattutto per sedimenti dragati, ma anche per il rimedio in sito di acque poco profonde. Gli esiti sono stati contrastanti, andando da una efficace rimozione fino a risultati negativi. Nel caso sia necessario un ambiente anaerobico perché abbiano luogo le attività di deaerazione, le radici delle piante interferiscono col processo aumentando la disponibilità di ossigeno nel sedimento. Può essere necessario rimuovere residui delle piante quali le foglie cadute per prevenire che gli inquinanti tornino al suolo.

I rischi associati al fitorimedio, e del biorimedio in generale sono la degradazione dei contaminanti in intermedi ossidati più pericolosi dei composti parentali. I contaminanti o i loro intermedi, accumulati nei tessuti della pianta, attraverso gli erbivori possono entrare nella rete trofica e dare luogo a fenomeni di biomagnificazione (Perelo, 2010).

Il metodo richiede le condizioni di crescita delle piante, ovvero falda vicina (non più di 3 metri) e condizioni idrogeologiche stabili per quanto riguarda i suoli e generalmente un rimedio soddisfacente richiede più di una stagione di crescita (Khan et al., 2004).

6.2.3.8 Aggiunta di accettori di elettroni *in situ*

Alla matrice possono essere forniti accettori di elettroni propri delle respirazioni anaerobiche oppure ossigeno per i processi aerobici, allo scopo di accelerare il biorimedio naturale *in situ*. Le tecnologie per l'addizione di ossigeno alla matrice sono dette di **Enhanced Aerobic Bioremediation** (EAB).

Queste tecniche di *biostimulation* basate sull'aggiunta di accettori di elettroni presentano una forte problematica: la degradazione aerobica è quella più veloce ed efficace per la rimozione dei contaminanti organici (tranne per quelli clorurati, in tal caso si ha dechlorazione che richiede ambiente anaerobico) però l'ossigeno è scarsamente solubile in acqua (8-10 mg/l). D'altro canto gli accettori di elettroni delle respirazioni anaerobiche possono essere introdotti nella fase acquosa sotto forma di sali altamente solubili, però i processi anossici hanno rese più basse (Suthersan, 1999).

La scarsa solubilità dell'ossigeno determina anche una bassa efficienza dei principali processi di ossigenazione della matrice da trattare. Il vero fattore limitante di questi processi è stato infatti identificato non nelle cinetiche di crescita microbica ma dalla dissoluzione di ossigeno in acqua. Dati i problemi di intervento aggiuntivi dei sedimenti,

per queste matrici non sono attualmente applicate tecniche brevettate di ossigenazione *in situ*, ma esclusivamente quelle di aggiunta di accettori di elettroni per respirazioni anaerobiche. Gli esempi più noti dell'insieme di metodiche di ossigenazione, che sono tutti stati applicati con suoli, sono:

Processo Raymond: Sistema *pump-and-treat* per acque di falda con reattore biologico e aggiunta di perossido d'idrogeno per formare ossigeno. Solo il 20% dell'ossigeno disciolto è utilizzato, il resto abbandona le acque sotto forma di gas (Suthersan, 1999).

Bioventing e biosparging: L'aria viene iniettata nel suolo attraverso dei pozzetti. Mentre nel *bioventing* la zona interessata è quella insatura, nel *biosparging* l'aria viene insufflata nella zona satura e frangia capillare. Queste due tecnologie sono, sul lato pratico, identiche rispettivamente a quelle di *soil venting* (zona insatura) e *air sparging* (zona satura e frangia capillare). Mentre *bioventing* e *biosparging* sono focalizzate sull'arricchimento in ossigeno molecolare del mezzo tramite il flusso d'aria, nel *soil venting* e *air sparging* la finalità del flusso d'aria è quella di rimuovere i contaminanti per stripping. Ovviamente i due fenomeni, degradazione e stripping, possono coesistere. Nel caso di *bioventing* e *biosparging* il flusso d'aria può essere modulato in maniera di minimizzare la fuoriuscita di aria contaminata dal suolo. Sono tecniche privilegiate per inquinanti organici a medio peso molecolare, in quanto i composti organici volatili (VOC) possono fuoriuscire dal suolo nella fase aerea (Khan et al., 2004).

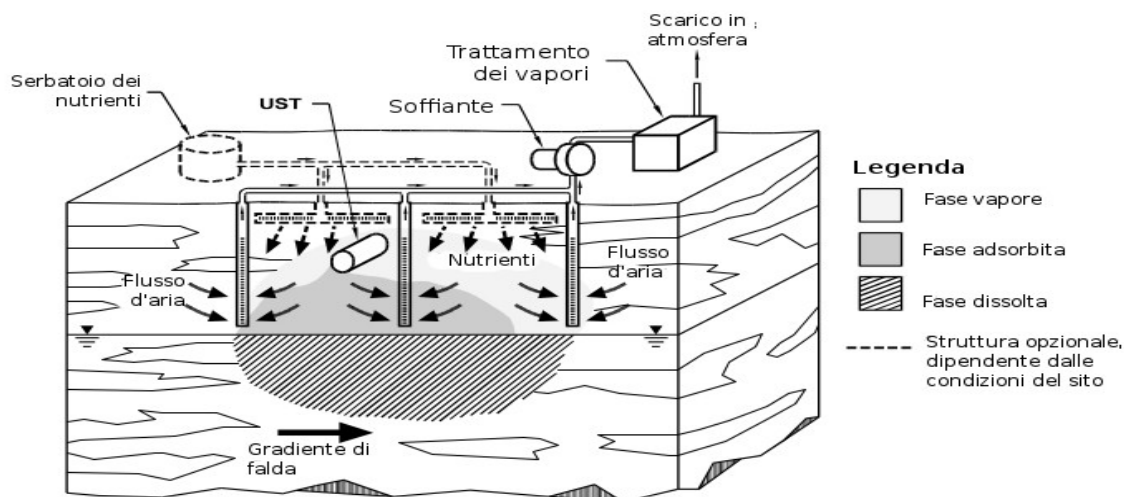


Immagine 6.5: Tipico schema di allestimento di un intervento di Bioventing. Fonte: US EPA OSWER, 2004

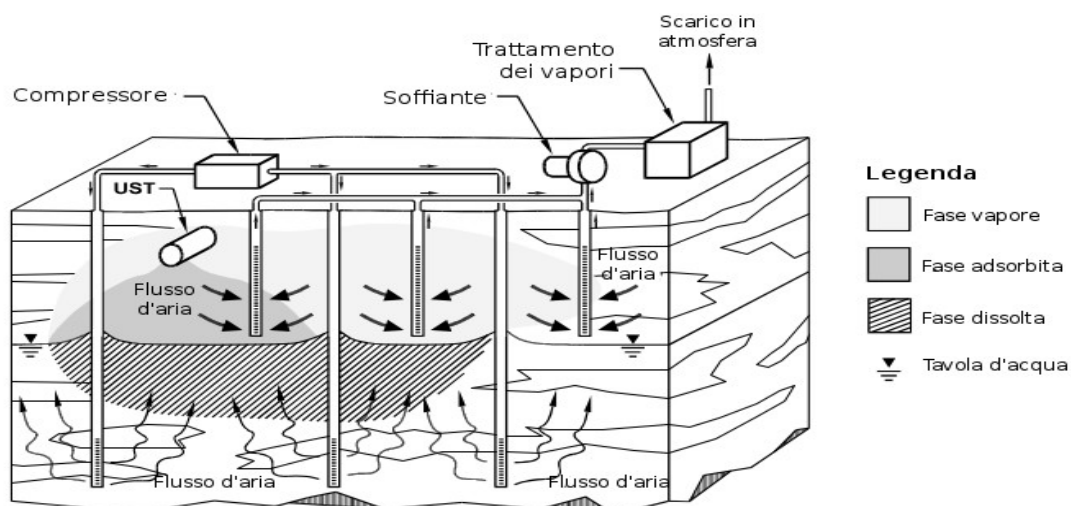


Illustrazione 6.6: Tipico schema di allestimento di un intervento di Biosparging. **Fonte:** US EPA OSWER, 2004

Soil vapour extraction (SVE): conosciuta *vacuum extraction* è una tecnologia complementare a quelle di *soil venting* e *bioventing*. L'aria non viene iniettata ma aspirata da pompe a vuoto attraverso i pozzetti nella zona insatura. I VOC vengono così aspirati assieme all'aria e destinati a trattamento, generalmente con adsorbimento su carboni attivi, mentre il flusso di aria che viene così attivato nel suolo stimola i processi aerobici. La tecnologia è frequentemente accoppiata a quelle di *bioventing* e *biosparging* col duplice scopo di massimizzare il flusso d'aria e impedire la fuoriuscita dei vapori dal suolo nell'atmosfera (Khan et al., 2004).

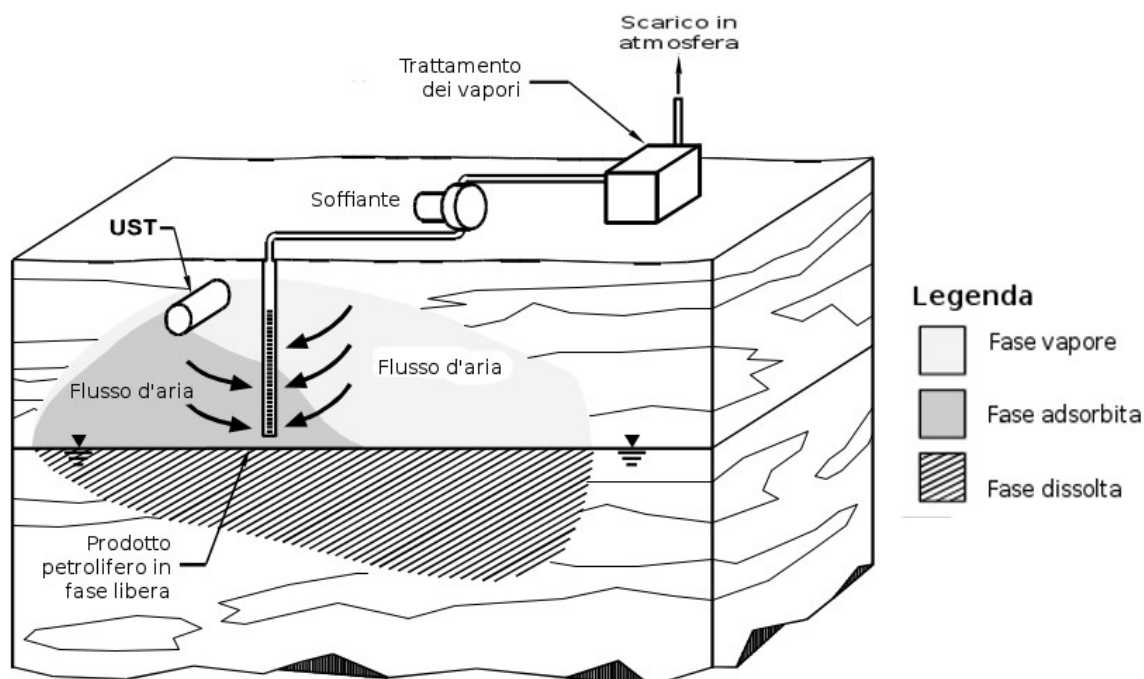


Immagine 6.7: Tipico schema di allestimento di un intervento di Soil Vapour Extraction. **Fonte:** US EPA OSWER, 2004

Iniezione di composti a produzione o rilascio di ossigeno: Vengono iniettate acque arricchite con composti solubili che per degradazione chimica producono ossigeno. Viene

così aggirata la problematica della scarsa solubilità dell'ossigeno.

Tabella 6.1: processi di produzione di ossigeno da degradazione chimica	
Tecnologia EAB	Stechiometria della produzione di ossigeno
Composti a produzione di ossigeno	
Perossido di idrogeno	$2H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2$
Ozono	$O_3 \rightarrow 1.5O_2$
Composti a rilascio di ossigeno	
Perossido di magnesio	$MgO_2 + H_2O \rightarrow \frac{1}{2}O_2 + Mg(OH)_2$
Perossido di sodio	$Na_2O_2 + H_2O \rightarrow H_2O_2 + NaOH$

Fonte: US EPA OSWER, 2004

È stato dimostrato che possono aumentare i livelli di ossigeno delle acque sotterranee contaminate, inoltre i prodotti di questa reazione, ossido di sodio e magnesio, possono fungere da sostanze tampone per il pH.

Queste tecnologie sono ancora poco efficaci nell'incentivazione dei processi aerobici, rispetto a quelle che incentivano i processi anossici. Gli equivalenti di ossidazione che possono essere introdotti in un acquifero con all'iniezione di una soluzione di sodio nitrato (solubilità di 9200 mg/l) satura sono 50 volte superiori a quelli che possono essere introdotti con una soluzione di ossigeno satura. La saturazione nell'acquifero stesso non deve essere raggiunta per prevenire gli effetti tossici dell'eccesso di nitrati (Suthersan, 1999).

Iniezione di ossigeno puro

Si tratta di una tecnica innovativa di *biostimulation* con aggiunta di ossigeno che riesce a compensare i problemi legati alla bassa solubilità di questo gas. È stata adottata con successo negli acquiferi ed è sul suo principio che la tecnica di BIO₂REMEDICATION® si basa. Consiste nell'iniezione ossigeno puro sotto forma di microbolle da tubicini porosi. L'elevata superficie di contatto e l'elevata contenuto di ossigeno massimizzano il trasferimento il trasferimento di gas alla fase acquosa per unità di volume immesso. Il 20% dell'ossigeno iniettato viene dissolto nella fase acquosa. (Michelsen e Lofti 1993).

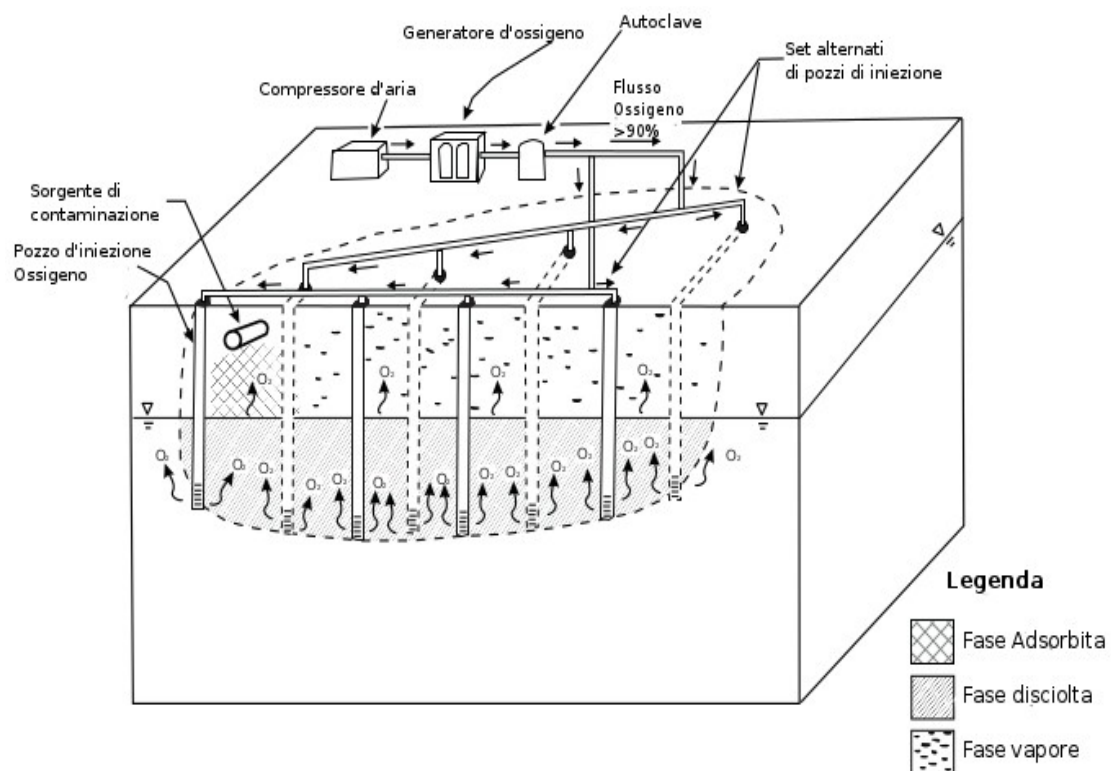



Immagine 6.8: Tipico schema di allestimento di un intervento di iniezione di ossigeno puro. **Fonte:** US EPA OSWER, 2004

Tabella 6.2: Confronto fra efficienze relative di arricchimento in ossigeno per varie tecnologie di *Enhanced Aerobic Bioremediation*.

Metodo	Descrizione	Concentrazione dell'ossigeno nel materiale carrier (mg/l)	Massa del carrier d'ossigeno per massa di ossigeno che passa in soluzione	Efficienza relativa di arricchimento in ossigeno
Fase acquosa				Bassa  Alta
Re-iniezione di acqua trattata/areata nell'acquifero.	Aria atmosferica a saturazione	9	110000	
Re-iniezione di acqua ammendata con ossigeno puro nell'acquifero.	O ₂ puro a saturazione	45	22000	
Re-iniezione di acqua ammendata con H ₂ O ₂ nell'acquifero.	100 mg/L di H ₂ O ₂	50	20000	
Fase solida				
Iniezione di composti a rilascio di ossigeno	MgO ₂ , Na ₂ O ₂	N.D.	10	
Fase vapore				
Iniezione di ozono	Ozono al 5% in volume	98	12	
Biosparging e bioventing con aria o ossigeno	Ossigeno al 21% in volume	275	4	
Iniezione di ossigeno puro	Ossigeno al 95% in volume	1250	1	

Fonte: US EPA OSWER, 2004

6.3 Collocazione dell'intervento di BIO₂REMEDICATION®

La tecnologia di BIO₂REMEDICATION® può quindi essere collocata in tale schema di classificazione delle strategie di gestione di suoli e sedimenti contaminati per le seguenti caratteristiche, che vanno da un inquadramento generale ad uno particolare:

- Mutuata da omologhi metodi gestione per i suoli, essendo il settore dei suoli molto più approfondito rispetto a quello dei sedimenti;
- Tecnologia di rimedio: prevedere la rimozione dei contaminanti;
- Degradazione biologica: gli inquinanti sono degradati in forme meno pericolose o

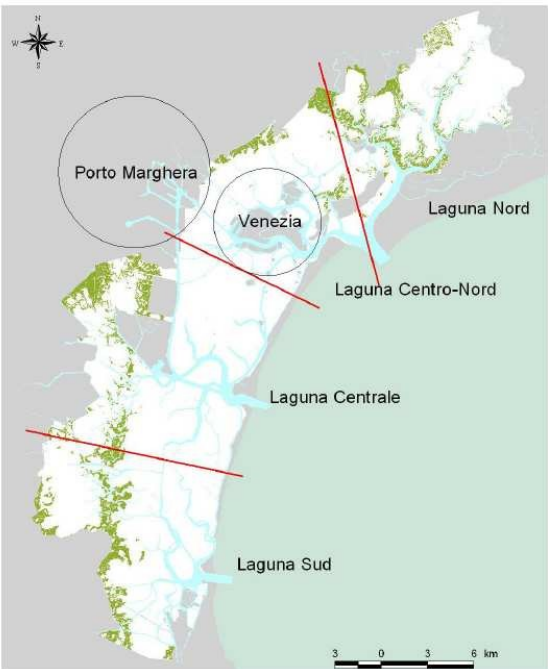
non pericolose attraverso processi biologici;

- *In situ*: non c'è spostamento meccanico della matrice inquinata, questo riduce l'impatto ambientale dell'intervento ed i costi per quantità di materiale trattato;
- *Biostimulation*: la crescita, e quindi anche l'attività degradativa, della comunità microbica locale vengono incentivate attraverso apporti esterni di materia ed energia;
- *Enhanced Aerobic Remediation*: la *biostimulation* in questo caso consiste nell'aggiunta di ossigeno alla matrice per stimolare i processi aerobici che sono quelli più efficaci;
- Iniezione di ossigeno puro: ossigeno puro viene iniettato sotto forma di microbolle per compensare la bassa solubilità in acqua di tale gas.

7. LA LAGUNA DI VENEZIA

La Laguna di Venezia è la zona dove le prime sperimentazioni dell'intervento di BIO₂REMEDIATION® hanno avuto luogo. È inoltre una zona d'Italia caratterizzata da condizioni molto particolari per cui gode, in materia di gestione dei sedimenti, di una legge speciale, ovvero il Protocollo d'Intesa del 1993. È la più grande laguna italiana e una delle più grandi in Europa. Situata nella parte nord ovest del Mare Adriatico, rappresenta un caso unico di ambiente estuarino, le cui caratteristiche sono date dal concorso di fattori antropici e naturali che coesistono da secoli.

Tabella 7.1: Laguna di Venezia divisa nei quattro sotto-bacini e alcune peculiarità.

	Superficie lagunare	550 km ²
	Superficie lagunare soggetta alle oscillazioni di marea	418 km ²
	Fish farms	92 km ²
	Paludi salmastre	36 km ²
	Isole e aree bonificate	40 km ²
	Volume della laguna	0.55 km ³
	Profondità media	1.3 m
	Area del bacino idrografico	2038 km ²
	Apporto di acqua dolce dal bacino idrografico	30 · 10 ⁶ m ³ /day
	Scambio di acqua con il mare aperto	400 · 10 ⁶ m ³ /day
	Maggiori pressioni antropiche	10 ⁶ abitanti nel bacino idrografico (incluse le isole); Agricoltura; Area industriale di Porto Marghera; Pesca Turismo Navigazione

Fonte: Apitz e al., 2007a

La Laguna di Venezia è un ecotono situato fra la terraferma e il Mare Adriatico. Si tratta di un sistema aperto, complesso, ordinato e dinamico. **Aperto** perché vede lo scambio di di materia ed energia con entrambi gli ecosistemi confinanti, terrestri e marino, **complesso** perché deve essere descritto attraverso un gran numero di variabili di stato, **ordinato** perché non è omogeneo, ma diviso in diverse zone spaziali con peculiari caratteristiche, e **dinamico** perché le caratteristiche fisiche, chimiche, biologiche variano continuamente nel tempo. Può quindi essere vista come un reattore limitato superiormente e inferiormente da due interfacce, aria/acqua e acqua/sedimento, attraverso le quali lo scambio di materia ed energia è intenso. La profondità media della Laguna è bassa (circa un metro) e ciò comporta una non netta distinzione spaziale fra lo strato degli organismi produttori (trofogenico) e quello degli organismi consumatori e decompositori (trofolitico). In aggiunto, l'intenso apporto di nutrienti dai sedimenti, il mare e i fiumi, fanno della Laguna di Venezia un ecosistema molto produttivo, rispetto al mare adiacente, dello stesso ordine di grandezza dei laghi bassi eutrofici (Ravera, 2000).

La Laguna è isolata dal mare da tre lidi, Cavallino, Lido di Venezia, Pellestrina, separati

da tre insenature, o *bocche di porto*, Lido, Malamocco e Chioggia. Questi tre canali assicurano, oltre al passaggio navale, il ricambio delle acque della Laguna attraverso il ciclo delle maree. Tale rinnovo è vitale per ristabilire condizioni ecologiche che attraverso l'irraggiamento solare, l'apporto di materiale dai tributari, e l'attività biologica dei mesi caldi (salinità, ossigeno disciolto, apporto eccessivo di nutrienti dai tributari, eutrofizzazione) sono andate peggiorando. Le tre insenature dividono la laguna in tre bacini, di cui quello più a nord, data la sua morfologia, viene diviso in altri due bacini. Quindi la Laguna di Venezia viene solitamente suddivisa in quattro sotto-bacini.

I sedimenti superficiali sono siltosi-argillosi, con un aumento della frazione sabbiosa verso le insenature, soprattutto quella di Malamocco. La presenza dominante di sedimenti a granulometria fine è un ulteriore problema per la Laguna in quanto la maggiore superficie specifica li rende più facile la ripartizione degli inquinanti nei sedimenti (Wetzel e Van Vleet, 2003). Da un punto di vista mineralogico la Laguna è piuttosto omogenea: i silicati dominano della parte centrale e settentrionale (quarzo-feldspati e minerali delle argille) mentre nella parte nord i carbonati (soprattutto dolomite) raggiungono il 50% della composizione (Apitz e al., 2007a).

7.1 Caratteristiche morfologiche

In quanto ambiente di transizione, la Laguna dovrebbe seguire la teoria del *continuum* di Whittaker, per cui la distribuzione delle specie di un ecosistema sviluppa un gradiente fra due estremi. Da un'analisi spaziale emerge però, che più che un gradiente è opportuno parlare di un mosaico. Questo tipo di distribuzione delle specie e delle condizioni ecologiche ricalca la morfologia della Laguna, che è caratterizzata da un reticolo di canali, zone più o meno profonde, e zone rialzate che emergono dall'acqua, come isole e barene.

Le *barene* sono zone rialzate rispetto al fondale che si formano per deposizione di sedimenti. La movimentazione dei sedimenti può essere indotta dalle correnti correnti d'acqua interne alla laguna, in tal caso le barene saranno adiacenti ad un canale, più profondo, oppure dall'apporto di materiale dei tributari. La loro estensione varia da pochi metri quadrati a diversi ettari. Le barene ricoprono la laguna per un quarto della sua estensione, 140 km².

Le **barene** emergono dall'acqua nella bassa marea, e in questi periodi sono visibili i *ghebi*, piccoli canali naturali che le percorrono. Le barene sono quindi ecosistemi paludosi, caratterizzati da comunità atte a tollerare nette variazioni di salinità, temperatura, e il passaggio da ambiente acquatico ad ambiente umido, o secco. Nel corso dell'alta marea le barene assorbono una grande quantità di acqua che viene poi parzialmente rilasciata durante la bassa marea. Con la loro funzione di spugna, sono quindi un importante fattore di regolazione del livello dell'acqua nella Laguna (Ravera, 2000).

Altro elemento caratterizzante della laguna sono le **isole**, la cui estensione complessiva è di 40 km². Si sono formate per sedimentazione, oppure per deposizione artificiale di sedimenti, rocce rifiuti, atte a crearne di nuove o ingrandire e stabilizzare quelle già esistenti. Al giorno d'oggi, solo una minoranza delle isole è abitata. Le isole esercitano una certa influenza all'interno dell'idrologia della laguna e forniscono aree dove è possibile lo svilupparsi di ecosistemi litorali (Ravera, 2000).

Un altro ambiente tipico della Laguna è la **valle**, ovvero una zona di acqua poco profonda isolata rispetto al resto della laguna da argini e litorali, sia naturali che artificiali. La loro estensione complessiva è di 9000 ha. In questi ambienti molte specie di pesce

trascorrono la loro fase giovanile, in primavera ed estate, per migrare ad autunno nella Laguna e nel mare a scopo di riproduzione. Sono zone poco impattate dal punto di vista ecologico, caratterizzate da eterogeneità di ecosistemi ed elevata biodiversità, sia per specie prettamente acquatiche che per la fauna aviaria. La *vallicultura* è una tipologia di acquacoltura storica, tipica della Laguna di Venezia in cui il pesce viene allevato e pescato sfruttando il suo comportamento migratorio. Viene lasciato arrivare e crescere nella valli nei mesi caldi e poi catturato nei flussi migratori autunnali. In passato l'unica via di ripopolazione era la migrazione dei giovani pesci in primavera, ma più recentemente si sono adottate le fish farm oppure l'introduzione di avannotti da allevamento (Ravera, 2000).

7.2 Problemi ambientali

La Laguna di Venezia è un'area particolarmente critica dal punto di vista ecologico per due principali fattori, che non possono essere considerati separatamente. Da una parte abbiamo un marcato inquinamento dei sedimenti che sono il serbatoio finale dei contaminanti provenienti da tutti gli altri comparti ambientali, e dall'altra la progressiva erosione della Laguna, che condurrebbe all'*appiattimento* della sua morfologia. Non possono essere considerati separatamente poiché, per il mantenimento della morfologia lagunare sono necessarie opere come il dragaggio dei canali o innalzamento delle aree sopraelevate, che comportano la movimentazione di sedimenti. Per limitare l'impatto ambientale, non possono essere depositi in Laguna sedimenti eccessivamente inquinati. A questo scopo è stato prodotto il Protocollo d'Intesa del 1993 (Ministero dell'Ambiente, 1993).

7.2.1 Inquinamento

La Laguna di Venezia è emblematica del rapido sviluppo industriale europeo nel secondo dopoguerra non accompagnato da un altrettanto forte sviluppo delle normative di salvaguardia ambientale e salute umana. Negli anni '60 e '70 ha subito un forte impatto dall'inquinamento da attività industriali, urbane, agrarie ha causato l'accumulo di metalli pesanti, sostanze causanti eutrofizzazione e inquinanti organici. (Secco et al., 2005)

Dopo l'annessione di Venezia al Regno d'Italia (1866) fu adottato un piano di sviluppo che prevedeva l'estensione dell'area urbana alla terraferma. Sarebbero stati però divisi i ruoli: l'antica città come centro storico, nodo culturale e turistico, e l'estensione di terraferma (Marghera, Mestre) come porto industriale. Nel 1870 iniziarono i lavori di costruzione del porto commerciale di Santa Marta e nel 1917 fu decisa la costruzione di Porto Marghera, necessario allo sviluppo della prima area industriale, inizialmente pensata per l'industria metallurgica. Nel 1920-1930 fu scavato il Canale Vittorio Emanuele III, che connette Porto Marghera al Canale della Giudecca. Per il consentire il passaggio delle petroliere da Malamocco a Porto Marghera fu costruito nel 1965-1969 il Canale dei Petroli. Questo canale ha comportato un impatto superiore delle maree nel sistema lagunare ed un'aumentata attività erosiva. Negli anni '60 iniziarono i lavori per una seconda zona industriale di Porto Marghera, con progetti per la costruzione di una terza. Quest'ultima, data la forte percezione dei rischi ambientali e di salute umana degli abitanti, non fu mai costruita. Negli anni '50 e '60 il porto industriale di Marghera era uno dei più importanti in Italia, ma dai '70 ha visto un costante declino (Ravera, 2000).

Fino agli anni '80 non era stata posta in essere nessuna regolamentazione delle attività industriali di Porto Marghera, e gli scarichi in Laguna vennero ampiamente ignorati.

L'analisi di radionuclidi nei sedimenti mostra che il picco di contaminazione si è avuto nel corso degli anni '70, seguito da un progressivo calo. Da allora, per effetto congiunto della decrescita industriale, spopolamento del centro storico, ed entrata in vigore di una più restrittiva legislazione in materia ambientale, l'immissione di inquinanti nell'ecosistema si è quindi ridotta. Però gli inquinanti prodotti negli anni di massima crescita sono tuttora presenti nei sedimenti depositati in tale periodo e possono ancora sortire effetti ambientali avversi se risospesi (Wetzel e Van Vleet, 2003 e riferimenti all'interno).

Anche la gestione dei sedimenti lagunari è stata fino all'inizio degli anni '90 ampiamente trascurata. Fino al 1967 era previsto lo scarico in casse di colmata di sedimenti provenienti da escavazione. Gran parte dei sedimenti dragati successivamente sono stati scaricati a mare prima dell'introduzione dell'obbligo al riuso in Laguna di Venezia sulla base degli interventi del 1989 e le restrizioni introdotte dal Protocollo d'Intesa del 1993. Va tenuto conto che il dragaggio dei canali della città di Venezia, che era stato sempre eseguito durante la Serenissima Repubblica era stato interrotto dal 1960, salvo interventi minori, fino all'accumulo medio di un metro di sedimento nei rii, è ripreso solo dal '90 in poi. Quindi la necessità di gestire più oculatamente i sedimenti proveniva anche dalla constatazione che ora ci sarebbe stata anche una quota proveniente dalle opere di manutenzione ordinaria del centro storico. Nel periodo 1985 – 1995 proseguì pertanto l'attività di scarico a mare previa autorizzazione del Ministero dell'Ambiente.

7.2.1.1 Stato attuale

Per dare una valutazione della variazione spaziale e temporale delle concentrazioni di inquinanti nei sedimenti della Laguna in tempi recenti, Secco et al. (2000) hanno condotto tre campagne di campionamento, nel 1987, 1993, 1998 in diverse stazioni. (immagini 7.1, 7.2, 7.3) Ne sono emerse alcune evidenze.

Esiste una distribuzione spaziale. Le concentrazioni delle tre categorie di inquinanti organici ricercati, policlorobifenili (PCB), pesticidi organoclorurati (POC), IPA sono massime rispettivamente nei sedimenti dell'area industriale, alle foci dei fiumi e nei canali del centro storico. Le concentrazioni di tutti i tre gli inquinanti decrescono spostandosi verso il mare aperto.

Esiste una variazione temporale. Nel corso dei 12 anni delle tre campagne le concentrazioni di PCB e pesticidi organoclorurati sono calate rispettivamente del 60-80% e 70-90%. Le motivazioni di ciò possono essere l'effetto di messa in opera di sistemi di trattamento degli scarichi più efficaci, ridotto utilizzo di prodotti chimici nell'agricoltura, ma anche risospensione del sedimento, che ha quindi distribuito gli inquinanti su una più vasta area.

Invece le concentrazioni di IPA non sono diminuite. Questo perché le attività che costituiscono la loro fonte non sono calate (anzi, il comune di Venezia ha registrato un aumento del 20% del traffico di barche e navi a motore fra il 1986 e il 1998) e i sedimenti all'interno dei canali di Venezia città tendono ad avere una granulometria più fine. Si deduce quindi che nel corso degli anni l'epicentro di contaminazione di acque e sedimenti nella Laguna si sta spostando dalla zona industriale verso quella urbana, e che gli IPA sono inquinanti che costituiscono ancora un serio problema.

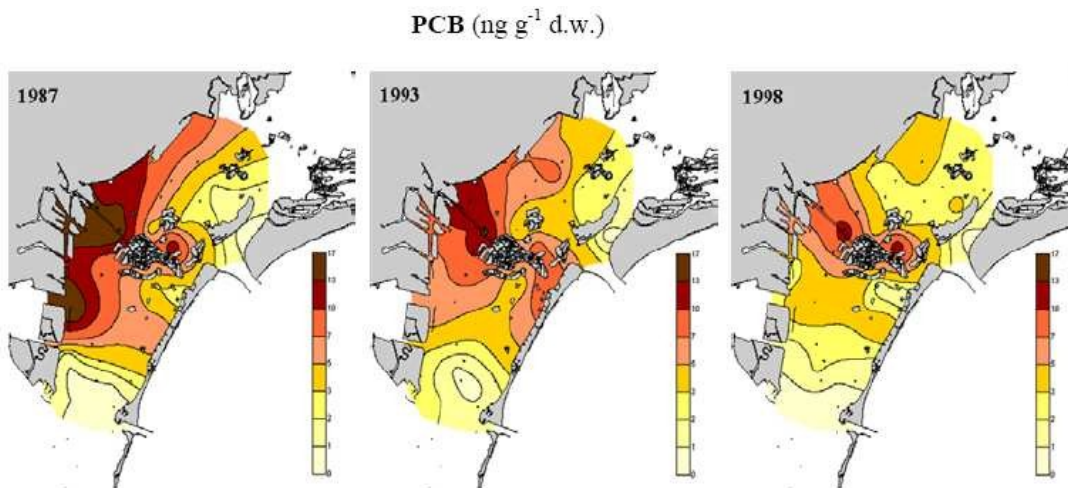


Immagine 7.1: Distribuzione spaziale e variazione temporale dei PCB. Le concentrazioni nel tempo tendono a diminuire. **Fonte:** Secco et al. 2005.

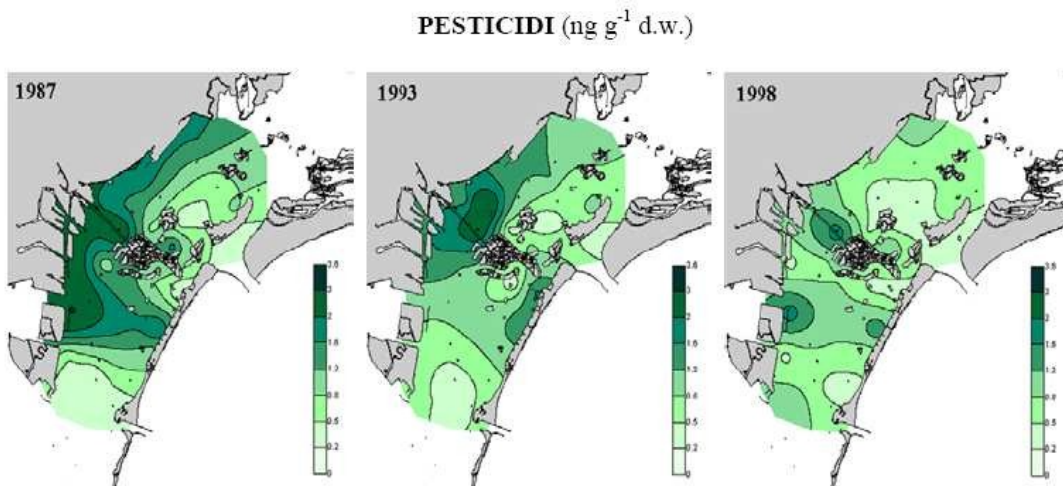


Immagine 7.2: Distribuzione spaziale e variazione temporale dei POC. Le concentrazioni nel tempo tendono a diminuire. **Fonte:** Secco et al. 2005.

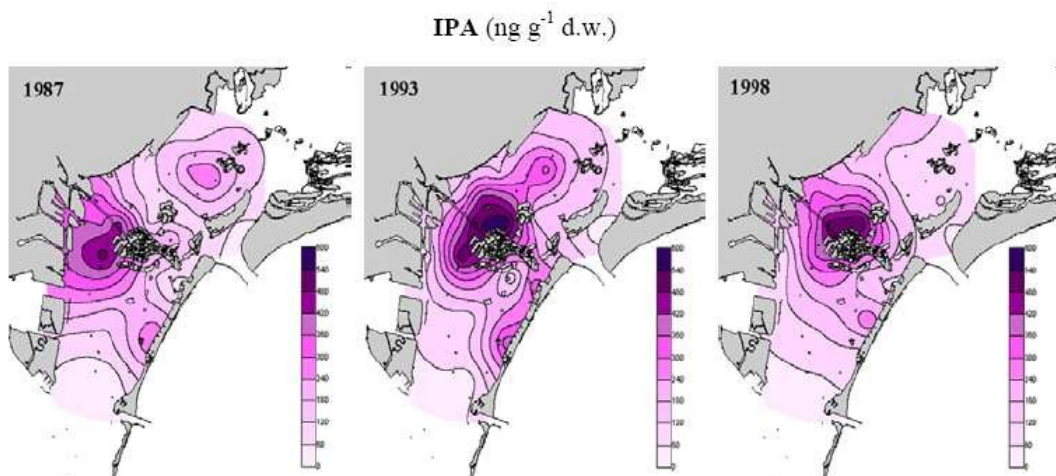


Immagine 7.3: Distribuzione spaziale e variazione temporale dei PCB. Le concentrazioni nel tempo tendono ad aumentare e l'epicentro della contaminazione si sposta verso il centro storico. **Fonte:** Secco et al. 2005.

Ne emerge quindi che le maggiori fonti di contaminazione della laguna di Venezia allo stato attuale sono (Apitz e al., 2007a e riferimenti all'interno):

1. I **fiumi** del bacino idrografico. I fiumi sono i principali responsabili dell'apporto di pesticidi e di nutrienti per l'agricoltura che causano eutrofizzazione;
2. Acque di **scarico** trattate e non che vengono immesse direttamente nella Laguna dall'area industriale di **Porto Marghera**;
3. **Scarichi domestici** non trattati, ricchi in nutrienti algali, azoto e fosforo, che ancora adesso vengono nella maggior parte dei casi scaricati direttamente nei 180 canali interni della città (detti *rii*) e quindi dispersi nella Laguna attraverso il ciclo delle maree (Ravera, 2000).
4. **Deposizione del particolato** atmosferico proveniente da combustione incompleta di impianti di riscaldamento domestico, barche a motore e impianti industriali;
5. Avvezione di **acque sotterranee** contaminate dagli argini dei canali di Porto Marghera.

Venezia tuttora non adotta un trattamento estensivo e sistematico delle acque di scarico. Sebbene non sia classificabile come un'area di scarico diretto o sversamento di petrolio, è caratterizzata da uno scarico di rifiuti ed inquinanti cronico e non localizzato. Le sue peculiarità ecosistemiche la rendono difficilmente paragonabile con altre aree inquinate. La Laguna ha livelli di contaminazione dei sedimenti dell'ordine dei 10^2 - 10^3 $\mu\text{g/g}$, paragonabili a quelli della foce del fiume Providence (U.S.) e della Baia di Chesapeake (U.S.). Questo la pone nella stessa categoria delle aree più pesantemente impattate dagli scarichi a livello mondiale (Wetzel e Van Vleet, 2003).

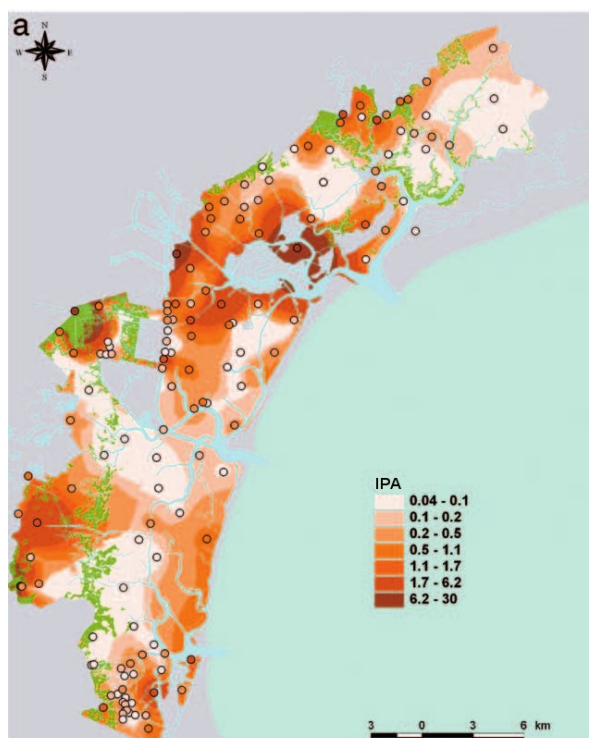


Immagine 7.4: In maggiore dettaglio, distribuzione delle concentrazioni di IPA nei sedimenti (ng/g d.w.) nella Laguna di Venezia. Come si può notare una delle aree di massima concentrazione è Venezia città. **Fonte:** Apitz et al. 2007a.

Gli effetti dell'eutrofizzazione non sono stati evidenti fino agli anni '80 nel corso dei quali si ha avuto un'esplosione delle popolazioni di microalghe nitrofile, soprattutto l'alga verde *Ulva rigida*, a spese delle fanerogame marine, con serie conseguenze per la biodiversità e le attività umane (formazione di acido solfidrico, odori sgradevoli, problemi di navigazione e moria dei pesci). L'esplosione di questa specie si è accompagnata a quella del moscerino *Chironomus salinarius*, la cui larva ha trovato un ambiente favorevole nelle acque infestate di *Ulva rigida*, probabilmente per la grande quantità di carbonio organico nei sedimenti (legato alla degradazione dell'alga) e la scomparsa dei predatori e competitori naturali dovuta alla diffusione dell'ambiente anossico, la larva infatti sopravvive anche in condizioni di grande scarsità di ossigeno. L'unica misura sistematica presa contro tale infestazione è stata la rimozione fisica dei talli di *Ulva rigida*. L'alga ha visto nel corso degli anni '90 un progressivo declino, accompagnato a quello di *C. salinarus* le cui cause determinanti sono ancora sconosciute (Ravera, 2000).

7.2.2 Degrado morfologico e subsidenza.

Accanto al problema dell'inquinamento è altrettanto rilevante quello dell'erosione dei fondali.

Le lagune sono per definizione ecosistemi geologicamente instabili e a vita breve. Sono destinate ad evolversi alternativamente in paludi e quindi terraferma nel qual caso l'apporto di sedimenti dai tributari supera l'azione erosiva delle onde e delle maree, oppure in baie nell'eventualità opposta. La Laguna di Venezia, nel caso specifico sarebbe stata destinata ad un interrimento.

Gli abitanti di Venezia in passato avevano però nel loro interesse che rimanesse una laguna, poiché questa particolare conformazione consentiva lo sviluppo delle attività mercantili via acqua e al contempo una protezione fisica, attraverso i lidi da parte di eventuali invasori. La vita della laguna è stata artificialmente prolungata nei secoli dalle opere di movimentazione dei sedimenti, e deviazione dei tributari, da parte della Serenissima Repubblica di Venezia (Ravera, 2000).

Attualmente la Laguna sta correndo il rischio opposto. Per effetto della subsidenza le coste del mediterraneo stanno lentamente, ma continuamente, affondando. Questo fenomeno è nella maggior parte dei casi ampiamente compensato dalla deposizione di sedimenti apportati dai fiumi, ma la Laguna di Venezia rappresenta un'eccezione, in quanto i maggiori fiumi sono stati in passato dirottati dal suo bacino. In aggiunta alla subsidenza e alla ridotta sedimentazione, l'eustatismo (innalzamento del livello del mare dovuto al riscaldamento globale), l'estrazione di gas naturale dai giacimenti sottostanti e di acqua dalla falda, comportano un serio rischio di affondamento della Laguna, lento ma costante (Ravera, 2000). Si stima che nell'ultimo secolo, se la subsidenza della Laguna fosse stata imputabile a sole cause naturali, sarebbe stata meno di due centimetri; ma dal dopoguerra agli anni del boom economico la subsidenza raggiunse ed in qualche luogo superò dieci centimetri. In seguito alla rigida regolamentazione degli emungimenti il fenomeno è drasticamente diminuito (Ufficio di Piano ex DPCM 13 febbraio 2004, 2010).

Le attività antropiche, quali navigazione pesca costituiscono un grande fattore di disturbo alla naturale sedimentazione. Nel corso degli anni '90 della raccolta delle vongole, uno di questi fattori di disturbo è fortemente incrementata, date le più avanzate strumentazioni e l'introduzione della specie alloctona *Ruditapes philippinarum*, più produttiva di quella indigena. Inoltre, l'invasione dell'alga *U. rigida* ha comportato la

riduzione della superficie di fondale coperta da fanerogame marine, e quindi protetta dall'azione erosiva. Il declino dell'alga dal '90 in poi ha lasciato una vasta porzione di fondale completamente scoperta e direttamente esposta agli agenti erosivi naturali ed antropici. Questi fattori, che comportano la risospensione ed il mescolamento del sedimento, rendono la datazione della carota coi radionuclidi una tecnica inaffidabile e quindi il tracciato temporale dell'inquinamento difficile da ricostruire (Secco et al. 2005).

Per effetto congiunto di agenti erosivi naturali (onde e maree) ed antropici, ridotto apporto di materiale dal bacino idrografico, e maggiore esposizione diretta dei fondali agli agenti erosivi, la laguna sperimenta una perdita di circa 1.1 milioni di metri cubi di sedimenti all'anno. L'azione erosiva inoltre, implica la perdita di diversità morfologica. I canali vengono seppelliti dai sedimenti asportati dalle zone sopraelevate, come *barene* e isole. Questo fenomeno di *appiattimento* comporta riduzione della diversità ecosistemica e quindi calo della biodiversità.

Per contrastare l'abbassamento della Laguna sono state prese diverse misure:

1. Sono state costruite barene con sedimenti provenienti dal dragaggio dei canali. Che era stato interrotto dal 1960 agli inizi degli anni '90;
2. La diga artificiale de I Murazzi è stata ricostruita, dopo che la tempesta del 4 Novembre 1966 l'aveva distrutta;
3. È stata vietata l'estrazione di gas metano e la costruzione di nuovi pozzi artesiani. Inoltre è stata ridotta l'estrazione dei pozzi già esistenti.

Il calo della biodiversità testimonia chiaramente il peggioramento delle condizioni ecosistemiche della laguna, dato dai già discussi fattori di inquinamento ed erosione: dal 1930 il numero delle specie è complessivamente diminuito del 20%, del 50% per quanto riguarda quelle vegetali, e la copertura di fanerogame marine si è ridotta del 80% (Wetzel e Van Vleet, 2003 e riferimenti all'interno).

7.3 Gestione dei sedimenti in Laguna

Quindi per quanto riguarda la gestione ambientale della Laguna di Venezia è di massima rilevanza la gestione dei sedimenti, qualora si tratti di loro bonifica, movimentazione finalizzata alla discarica o al ripristino della diversità morfologica. Inoltre le opere di escavazione dei sedimenti previste per i lavori in essere, cioè la costruzione del M.O.S.E., il dragaggio dei canali di Porto Marghera e l'allargamento del Porto di Chioggia, comporteranno l'accumulo nei prossimi dieci anni di circa 20 milioni di metri cubi di sedimenti con diversi livelli di contaminazione, da dover gestire.

La movimentazione dei sedimenti della Laguna di Venezia è regolata dall'art.4 comma 6 della L.360/1991 e dal conseguente **Protocollo d'Intesa del 1993** recante "Criteri di sicurezza ambientale per gli interventi di escavazione trasporto e reimpiego dei fanghi estratti dai Canali di Venezia" **08/04/1993** (Ministero dell'Ambiente, 1993).

Il decreto prevede la suddivisione dei sedimenti lagunari in funzione della possibilità di riutilizzo per interventi di recupero e ricostruzione morfologica in modo da evitare o limitare gli impatti sul sistema ambientale. Sono definite tre classi di qualità, in ordine decrescente, sulla base della possibilità di riutilizzo della risorsa. La classificazione segue quella che a livello internazionale è definito criterio *pass/fail* (promosso/bocciato). Sono definiti una serie di parametri chimici, ovvero categorie di inquinanti organici ed inorganici

e dei limiti soglia. Se la matrice supera la soglia di concentrazione (standard) assegnata per uno o più parametri dati, allora viene degradata alla categoria successiva. Tuttavia, se la categoria di inquinanti che supera gli standard è una sola, è ammesso un superamento della soglia entro il 10% senza che il sedimento venga declassato.

Le classi sono:

Classe A: fanghi di dragaggio utilizzabili in interventi di ripristino di morfologie lagunari (ricostruzione di barene erose e recupero di zone depresse) comportanti il contatto diretto o indiretto di detti fanghi con le acque della laguna e suscettibili di rimettere in ciclo nelle acque lagunari i fanghi stessi;

Classe B: fanghi di dragaggio utilizzabili in interventi riguardanti il recupero e il ripristino di isole lagunari, realizzati in maniera tale da garantire un confinamento permanente dei fanghi stessi così da impedire ogni rilascio di inquinanti nelle acque lagunari; il sito di intervento deve essere comunque conterminato in maniera da evitare erosioni e sommersioni in caso di normali acque alte;

Classe C: terre di dragaggio utilizzabili in interventi riguardanti ampliamenti ed innalzamenti di isole permanentemente emerse o di aree interne limitrofe alla conterminazione lagunare, realizzabili con un confinamento permanente costituito da strutture dotate di fondazioni profonde e continue, tali da evitare sia in corso d'opera che ad opera compiuta qualsivoglia rilascio di specie inquinanti a seguito di processi di erosione, dispersione ed infiltrazione di acque meteoriche.

I fanghi classificati “**oltre C**”, nonché tossici e nocivi, sono esclusi da ogni destinazione all'interno del contermine lagunare e devono essere smaltiti in discariche autorizzate.

Tabella 7.2: Standard delle classi di sedimento secondo il Protocollo d'Intesa 08/04/1993

Elementi e Composti	Classe A	Classe B	Classe C	
Inorganici	Hg	0.5	2	10
	Cd	1	5	20
	As	45	100	500
	Cr	15	25	50
	Cu	40	100	500
	Ni	40	50	400
	Zn	45	50	150
Organici	Idrocarburi Totali	200	400	3000
	IPA Totali	30	500	4000
	PCB Totali	1	10	20
	POC Totali	0,01	0.2	2

L'unità di misura è mg di inquinante su kg di sedimento secco (s.s.)

In termini di estensione areale percentuale la quasi totalità della laguna (93,6%) rientra nella classe B, il 5,1% nella classe C e l'1% nella classe A. Ciò implica che la maggioranza dell'area lagunare non può essere al momento utilizzata quale risorsa di sedimenti superficiali per interventi di ricostruzione di barene erose e recupero di zone depresse, che comportino il contatto diretto o indiretto con le acque della laguna e quindi il riciclo dei sedimenti stessi.

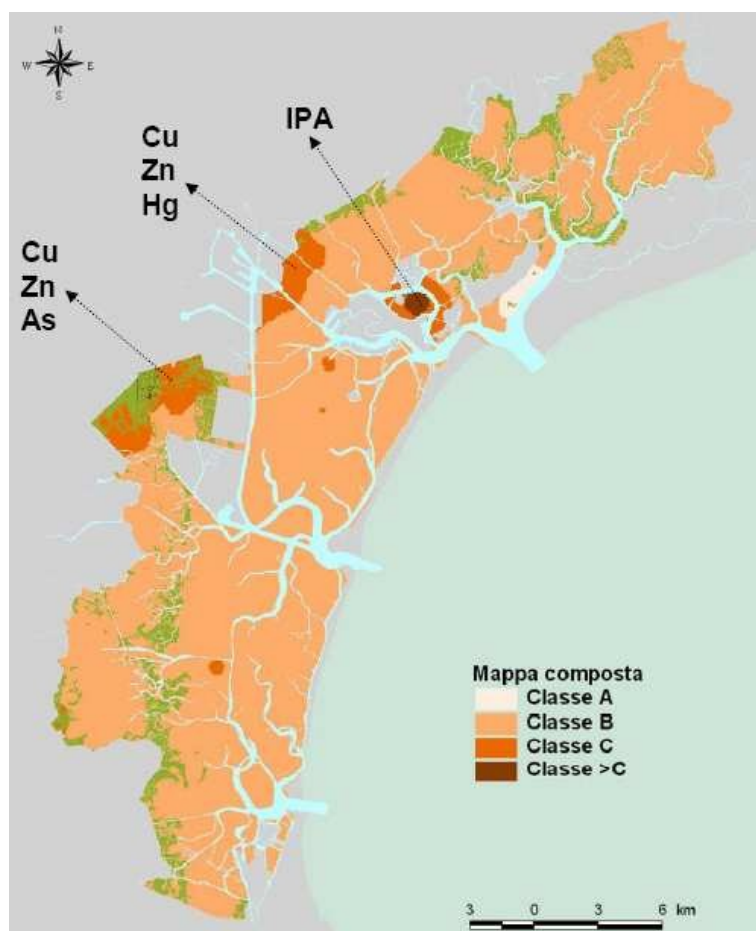


Immagine 7.5: Classificazione dei sedimenti superficiali della laguna secondo i limiti del Protocollo di Intesa del 1993. Sono evidenziati gli elementi che determinano l'appartenenza alla classe C e superiore a C delle aree indicate. Il Cr non è stato considerato in quanto il suo livello di background naturale è già superiore a quello della classe A. Fonte: Ufficio di Piano ex DPCM 13 febbraio 2004 , 2010.

7.4 Confronto con altri criteri di valutazione della qualità dei sedimenti

Come già detto, le classi di qualità adottate per i sedimenti della laguna di Venezia seguono un approccio *pass/fail* basato sulle sole concentrazioni chimiche. In questo caso le linee guida per la qualità dei sedimenti (*sediment quality guidelines*, **SQG**) sono valori soglia per le concentrazioni, superate le quali il sedimento viene declassato ad una categoria di qualità peggiore. Questo tipo di criterio presenta il vantaggio della semplicità e quindi la velocità nella produzione di un rapporto a cui possono seguire gli interventi dovuti.

Si tratta però di uno strumento grezzo, che non fornisce una stima della pericolosità dei sedimenti sulla base della somma delle concentrazioni degli inquinanti e trascura fattori di spostamento e trasformazioni chimiche che ne determinano la biodisponibilità, e quindi la probabilità con cui essi possano entrare nella catena trofica, e quindi generare effetti ambientali avversi, o anche essere biodegradati.

Approcci più elaborati e complessi sono basati sui quozienti di rischio (*Hazard Quotient*, **HQ**) ovvero dei rapporti fra la concentrazione del contaminante nel sedimento preso in considerazione e la SQG stabilita per quel dato tipo di contaminante. Si ottiene quindi un numero che esprime il rischio associato al sedimento sulla base degli inquinanti considerati. La valutazione del rischio può essere orientata verso la salute dell'ecosistema, che generalmente non include gli esseri umani (ERA) oppure, al contrario, essere orientata verso la salute umana (HHRA). Possono essere calcolati HQ singoli, loro sommatorie e medie (Tabella 7.3).

Tabella 7.3: Differenti criteri di utilizzazione delle linee guida per la qualità dei sedimenti con relativi pro e contro			
Criterio	Descrizione	Pro	Contro
Pass/Fail	Se un sedimento supera almeno una delle SQG, anche di poco, viene declassato.	Facile da usare.	Valutazione di singoli composti.
Quoziente di rischio	$HQ_{ij} = \frac{C_{ij}}{SQG_i}$	Facile da usare. Il grado di contaminazione è proporzionale alla grandezza del quoziente.	Valutazione di singoli composti.
Somma dei quozienti di rischio	$\sum_1^n i (HQ_{ij})$	Considerazione di rischi aggiuntivi.	Dipende dal numero di contaminanti analizzati
Quoziente di rischio medio.	$mHQ_j = \frac{\sum_1^n i (HQ_{ij})}{n}$	Considerazione di rischi aggiuntivi. SQG multi-componente.	Dipende dal numero di contaminanti analizzati. Riduce l'importanza di grandi eccessi di singoli composti.

Legenda: **HQ** è il quoziente di rischio, **SQG** la linea guida di qualità, *n* il numero di contaminanti. Il pedice *i* indica la serie dei contaminanti, *j* quella dei sedimenti. C_{ij} è quindi la concentrazione del contaminante *i* nel sedimento *j*. **Fonte:** Apitz et al. 2007a.

Sulla base di queste osservazioni Apitz et al. (2007a, 2007b) hanno realizzato uno studio basato sulla raccolta di diversi set di dati da precedenti pubblicazioni riguardanti i sedimenti superficiali Laguna di Venezia e il confronto fra gli standard di qualità chimica italiani e quelli internazionali.

Le SQG sono state quindi suddivise, per facilitare la comprensione, in base alla categoria di rischio dei sedimenti che esse rappresentano (vedi Tabella 7.4)

1. SQG “di background” o SQG “di riferimento” costituiscono un insieme di soglie derivate dai livelli di inquinanti presenti in sedimenti completamente o relativamente incontaminati;
2. SQG *no effects* “senza effetto” livelli di soglia utilizzati per garantire che i contaminanti, seppur presenti, non generano rischio ambientale;
3. SQG *probable effects* “effetti probabili” comprende limiti il cui superamento richiede di procedere con una valutazione sitospecifica del rischio e limiti che prevedono l’avvio di azioni di risanamento qualora superati;

4. SQG *extreme effects* “effetti estremi” il superamento di queste soglie implica effetti talmente probabili da non richiedere una valutazione del rischio sito-specifica, e le azioni correttive devono essere intraprese immediatamente.

Tabella 7.4: Criteri di valutazione della qualità dei sedimenti a confronto applicata alla mediana dei valori medi di contaminazione della intera Laguna di Venezia					
	SQG	SQG per gli IPA Totali	N. di composti considerati	Sommatoria degli HQ	Media degli HQ
Background	SQO Italiani	1.00	11	17.90	1.63
	ARGE-ELBE Classe I		8	10.84	1.35
	Flemish ref.	0.91	11	29.63	2.69
No effects	Limite classe A	0.20	12	9.11	0.76
	ANZECC ISQG low	0.05	11	9.18	0.83
	Neth target	0.20	12	6.76	0.56
	TEL	0.12	11	13.24	1.20
	ERL	0.05	11	10.53	0.96
	ARGE- ELBE Classe II		10	9.04	0.90
	TEC I	0.07	12	8.85	0.74
	US TEC	0.07	10	11.35	1.14
Probable Effects	Limite classe B	0.02	12	2.83	0.24
	ANZECC high	0.00	10	1.88	0.19
	Neth QO	0.20	12	3.74	0.31
	ERM	0.00	11	2.21	0.20
	PEL	0.04	11	3.01	0.27
	AET	0.02	13	3.83	0.29
	PEC I	0.01	13	2.39	0.18
	US PEC	0.01	10	2.47	0.25
Ex. Effects	Limite Classe C	0.01	12	0.70	0.06
	Neth interv.	0.01	12	0.83	0.07
	Neth ex situ	0.03	12	2.93	0.24

Delle varie SQG si è scelto di illustrare quella relativa agli IPA totali.

Legenda: **SQO:** Obiettivi di Qualità dei Sedimenti Italiani; **ARGE-ELBE:** Arbeitsgemeinschaft fuer die Reinhaltung der Elbe; **ANZECC ISQG:** Australian and New Zealand Environment Conservation Council Interim Sediment Quality Guideline; **ERL:** Effects-Range Low; **TEC:** Threshold Effects Concentration ; **PEL:** Probable Effect Level; **AET:** Apparent Effects Threshold ; **PEC:** Probably Effects Concentration .

Fonte: Apitz et al. 2007a.

Emerge dallo studio che le differenti SQG applicate danno quadri di rischio piuttosto simili per quanto riguarda la Laguna: la parte sud ha i più bassi valori di rischio, mentre la parte centro-nord i più elevati, ovvero nella zona di Porto Marghera e Venezia Città.

C'è però una forte variabilità spaziale nella distribuzione delle concentrazioni relative e

ogni possibile soluzione dovrebbe prendere in considerazione le condizioni sito-specifiche, soprattutto per quanto riguarda i fattori che determinano la biodisponibilità: I flussi verticali degli inquinanti nei sedimenti, e quindi la durata della loro esposizione alla colonna d'acqua e al benthos sono determinati da processi di sedimentazione molto differenti da zona a zona, di composizione della matrice in funzione della granulometria e della sostanze organica, della turbazione meccanica (zone soggette a navigazione e pesca extra canali), della bioturbazione (organismi tubificidi). Un'analisi di rischio finalizzata a comprendere quali siano le zone in cui i gli inquinanti sono effettivamente biodisponibili e suscettibili di biomagnificazione, e, al contrario, dove questi rimangano segregati nelle particelle di sedimento, è resa impossibile dalla mancanza di una banca dati datata coerente e completa.

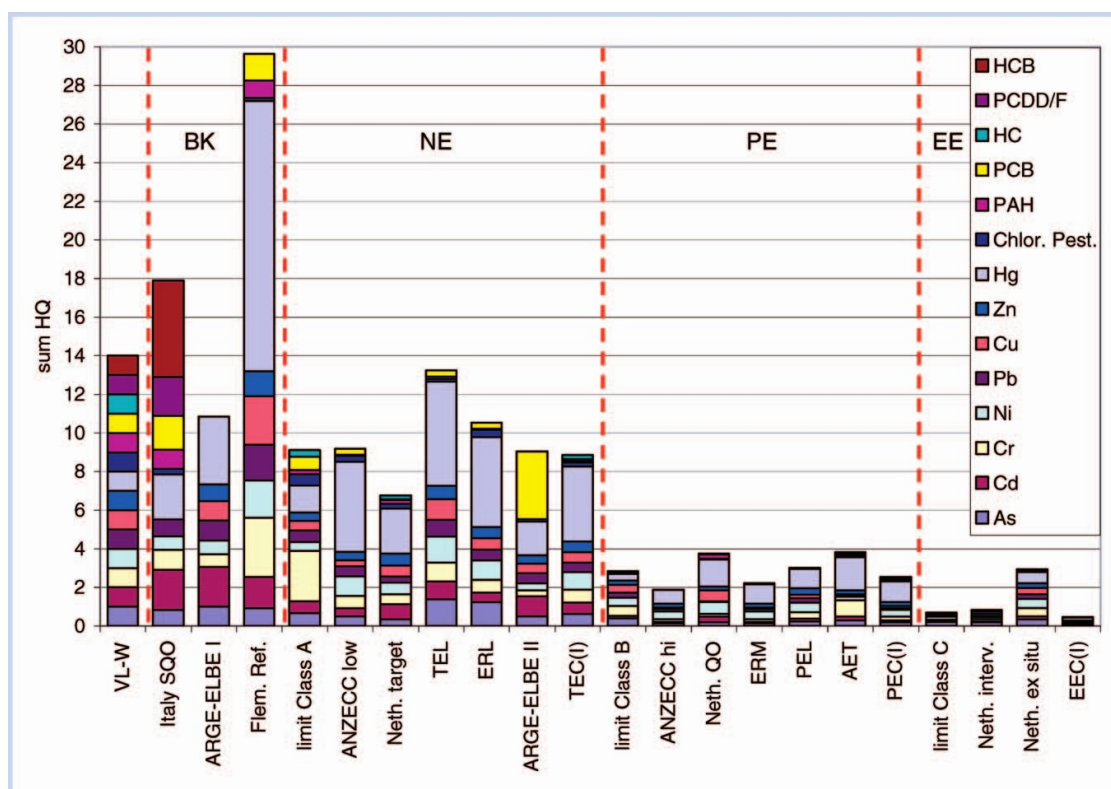


Immagine 7.6: somma dei singoli quozienti di rischio secondo le diverse SQG per l'intera laguna di Venezia (VL-W). **Fonte:** Apitz et al. 2007a.

Per quanto riguarda il confronto internazionale, se paragonati a dati provenienti da di siti analoghi, i sedimenti della Laguna di Venezia hanno quozienti di rischio vicini al limite inferiore della fascia delle zone moderatamente urbanizzate. Sebbene ci sia una variazione netta delle concentrazioni relative degli inquinanti fra le aree di Porto Marghera e Venezia città, i livelli della maggioranza degli inquinanti sono complessivamente paragonabili a quelli di casi di studio relativi ad aree classificate come ad elevato impatto antropogenico (Apitz et al. 2007b).

Pertanto gli autori suggeriscono che le SQG chimiche debbano essere solo uno dei parametri utilizzati in una più ampia valutazione di rischio, che prenda in considerazione condizioni sito-specifiche di biodisponibilità, trasporto, degradabilità degli inquinanti ecc.

8. INTERVENTO DI BIO₂REMEDIATION®

La BIO₂REMEDIATION® ha avuto due sperimentazioni nel contesto della Laguna di Venezia. La prima nella Darsena Sud di Porto Marghera (Citron Marta A.A. 2002/2003), la seconda nella Darsena dell'Arsenale Vecchio all'Arsenale di Venezia. Questo studio mira a verificare l'efficacia nel tempo e la persistenza del secondo intervento.

8.1 La sperimentazione a Porto Marghera

Questa zona è caratterizzata da un elevato livello di inquinamento. Lo scopo del lavoro è stato valutare gli effetti della prima applicazione sperimentale dell'intervento di BIO₂REMEDIATION® sulla qualità dei sedimenti per due categorie di inquinanti organici, PCB e alcuni IPA.

Sono state effettuate tre campagne di campionamento di sedimenti mediante carotaggi in tre siti all'interno del bacino scelto, prima, durante e dopo l'ossigenazione forzata. Uno dei siti è stato escluso perché troppo soggetto a fenomeni perturbativi legati al traffico di barche e navi e troppo distante dall'impianto di ossigenazione.

Per i due punti rimanenti sono stati effettuate analisi per la concentrazione di PCB e alcuni IPA, nonché granulometria, mineralogia, contenuto in carbonio organico e carbonio totale. Sono stati elaborati profili di variazione di concentrazione lungo la profondità del sedimento e studiate possibili correlazioni fra granulometria, contenuto in carbonio e concentrazioni degli inquinanti.

Gli IPA sono stati determinati attraverso

1. Estrazione solido-liquido in estrattore soxhlet, con miscela estraente costituita da una soluzione n-pentano/diclorometano (2:1 v/v);
2. Purificazione dei campioni: anidificazione con Na₂SO₄, desolfurazione mediante estrazione con mercurio, purificazione con cromatografia liquido-solido su colonna costituita da florisil e allumina;
3. Analisi gascromatografica con rivelatore a spettrometria di massa (Trace GC/MS 2000 Thermofinnigan) in modalità SIM.
4. Fra estrazione e purificazione alla miscela sono stati aggiunti standard interni, fenantrene ¹³C per la quantifica e fluorene deuterato come controllo dell'accuratezza.

È emersa una forte variabilità delle concentrazioni dei microinquinanti, per i dati si rimanda alla Tabella X in Allegato. Mentre il punto di campionamento più vicino all'impianto di trattamento ha visto una certa diminuzione nella concentrazione di inquinanti, il punto più distante ha visto addirittura un aumento. Questa variabilità non può essere motivata unicamente dall'eterogeneità granulometrica, poiché le variazioni nel contenuto di argilla sabbia e limo sono troppo modeste rispetto a quelle del contenuto in inquinanti.

Si è concluso che la zona di intervento era inadatta a testare questa procedura sperimentale, in quanto la perturbazione meccanica causata dal passaggio di navi e barche causa risospensione e rimescolamento dei sedimenti, ed agisce quindi come un eccessivo fattore di disturbo.

8.2 L'intervento all'Arsenale

Successivamente alla sperimentazione effettuata alla darsena del Canale Sud di Porto Marghera, si è allestito un intervento del tutto analogo nella Darsena dell'Arsenale vecchio, Arsenale di Venezia. Segue una breve descrizione del sito dell'intervento.

8.2.1 L'Arsenale di Venezia

L'Arsenale di Venezia è un complesso monumentale che ricopre un'ampia parte della città insulare. Ha una superficie complessiva di circa 478.000 m², di cui 136.380 m² costituiti da aree coperte, 224.620 m² da aree scoperte e 117.000 m² da spazi acquei. Occupa il bordo nord-est di Venezia con un'estensione di circa 48 ha. Il muro di cinta che lo circonda è lungo 5 km, interrotto da tre varchi pedonali, uno monumentale e due "di servizio" e da altrettanti accessi acquei. Recentemente sono stati realizzati altri due accessi dalla *passerella* che corre lungo il lato nord.

Rappresentò, all'epoca della Serenissima, il cuore dell'attività manifatturiera e mercantile della città, nonché il più grande cantiere navale al mondo, anticipando di secoli i moderni concetti di attività industriale. Essendo del tutto sottodimensionato rispetto alle esigenze dell'industria navale contemporanea, ha perso le sue funzioni origine, ed attualmente è sede di diverse attività e fondazioni in un progetto di qualificazione del sito.



Immagine 8.1: Fotografia satellitare dell'Arsenale

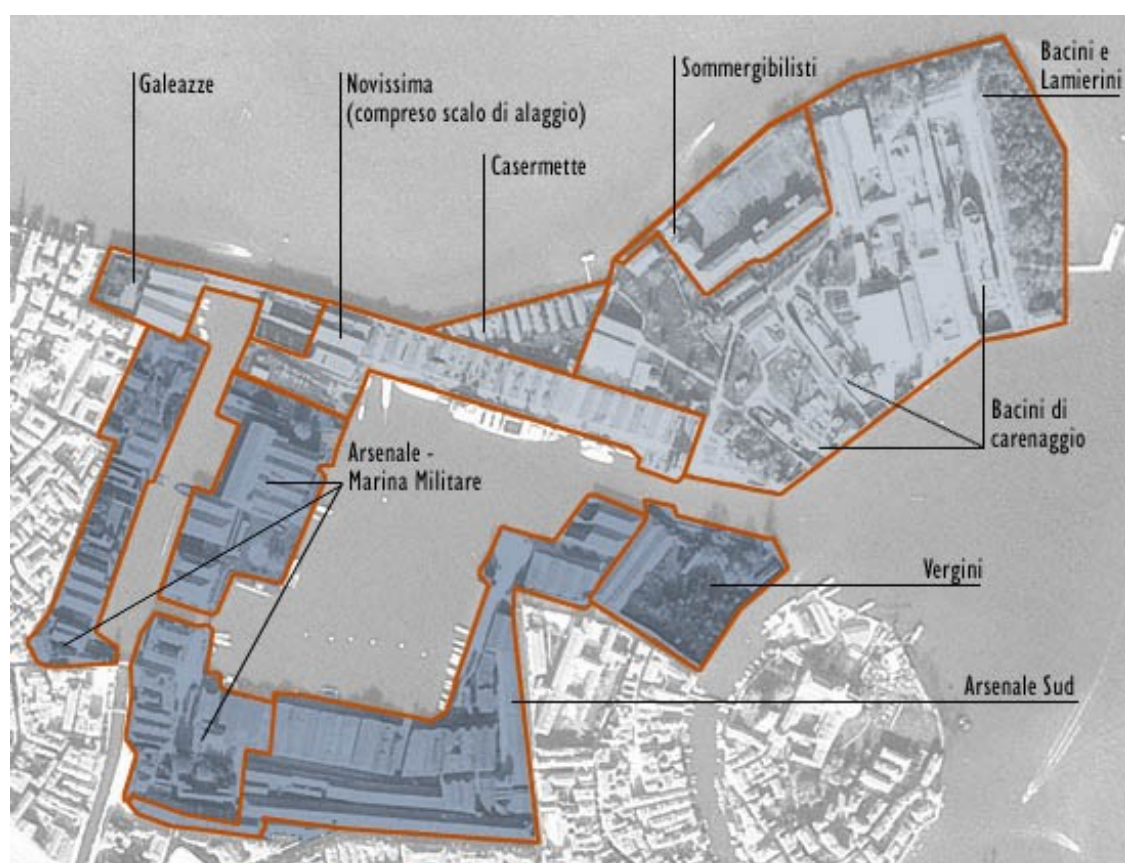


Immagine 8.2: Suddivisione dell'Arsenale in zone e confini

Tabella 8.1: Suddivisione delle aree interno dell'Arsenale.

	Sup. coperta (m ²)	Sup. scoperta (m ²)	Sup. totale (m ²)	Sup. acqua (m ²)	Volume (m ³)
Galeazze	9000	2100	11000	0	106310
Novissima (compreso scalo di alaggio)	19000	10700	29700	0	179100
Bacini e Lamierini	20330	117500	137830	0	166000
Sommergibilisti	4670	16200	20870	0	57730
Casermette	3350	6000	9350	0	15550
Totale area nord	56350	152500	208850	0	524690
Vergini	4930	14510	19440	0	35570
Arsenale Sud e Marina Militare	75100	57610	132710	0	684630
totale area sud	80030	72120	152150	0	720200
Darsena Grande	0	0	0	93000	0
Darsena e Vasca delle Galeazze	0	0	0	24000	0
Totale delle aree	136380	224620	361.00	117000	1244890
Totale Generale	478000				

8.2.1.1 Storia

La costruzione del primo nucleo del complesso (Arsenale Vecchio) viene collocata nella seconda metà del XIII secolo, ma non esiste una data di fondazione. Venne situato nella parte nord est della città, con finalità legate sia alla strategia militare, che quella mercantile, come punto di approdo per i legnami provenienti dal Cadore. All'inizio del XIV secolo venne costruito anche l'Arsenale Nuovo. Sorsero quindi le fonderie, le cordiere, officine dei remi e il reparto artiglieria. Venne ulteriormente ampliato fra il 1473 e il 1570, con l'aggiunta della Darsena Nuovissima e l'edificazione di diversi magazzini per merci, e strutture di alloggio per i lavoratori. Particolarmente importante per lo sviluppo della cantieristica navale fu la costruzione di galee e galeazze, i predecessori dei galeoni, nonché la produzione di funi navali a basso prezzo nelle cordiere. Questa fase coincide con l'apogeo dell'attività manifatturiera e cantieristica all'interno della Serenissima.

L'Arsenale venne quasi completamente dismesso nella prima occupazione francese, alla fine del XVIII secolo, per poi essere in parte riassetato un secolo dopo durante l'occupazione austriaca e il successivo governo napoleonico.

L'ultima fase di sviluppo si ebbe fra il 1876 e il 1909, in seguito all'annessione al Regno d'Italia, all'interno di un piano che mirava a farne una importante base navale dell'alto Adriatico. Si aggiunse l'area nuova del *piazzale dei Bacini* e le aree vecchie dei tre conventi soppressi di S. Daniele, delle Vergini e della Celestia. Per consentire il movimento delle navi fu scavata, fra le zone della Darsena Nuova e Nuovissima, la Darsena Grande. Dato l'innalzamento del livello del mare, il terreno fu elevato di 70 cm.

Da allora l'Arsenale, inadeguato alle necessità delle forze navali moderne, ha affrontato un lento declino. All'interno dell'Arsenale è rimasta la Marina Militare che ha mantenuto alcune delle sue attività. Gli impianti cantieristici invece sono stati progressivamente dismessi e l'intero Arsenale ha conosciuto un periodo di abbandono e di progressivo degrado.



Immagine 8.3: aree dell'arsenale con segnalata la data di edificazione o annessione.

8.2.1.2 Stato attuale

Proprietario è il Demanio dello Stato attraverso:

Ministero della Difesa - Marina Militare	m ² 296.161 (62%)
Ministero delle Infrastrutture e dei Trasporti	m ² 9.350 (2%)
Demanio Pubblico dello Stato - Ramo storico artistico	m ² 172.489 (36%)

A porre le basi per il progetto di recupero e della trasformazione dell'Arsenale in un polo scientifico-culturale sono state la Biennale di Venezia, che nel 1980 usò gli spazi delle Cordiere per la prima mostra di Architettura, e nel '97. la società Thetis, che è stata particolarmente attiva nel restauro degli edifici che ora ospitano i suoi uffici. Da una decina d'anni l'amministrazione comunale ha realizzato un Master Plan, coinvolgendo diverse istituzioni ed Enti, per la riqualifica del sito. Con questo obiettivo, su iniziativa dell'Agenzia del Demanio e del Comune di Venezia, nasce nel 2003 la società Arsenale S.p.A.

L'Arsenale ora ospita diversi Enti ed Istituzioni impegnate, operativamente o attraverso proposte logistiche alla riqualificazione del sito stesso. Gli operatori presenti possono essere suddivisi in cinque aree di ambito operativo.

Forze armate: ai lati del rio della Tana e lungo il lato sud del bacino. Lungo il rio della Tana gli edifici sono usati per uffici, residenza e infermeria. Fuori dalle mura e accessibile dall'esterno si trova il Museo Navale ed è in atto il trasferimento dell'Istituto di Studi Militari Marittimi lungo il rio. Sebbene siano presenti ancora officine e depositi, molti degli edifici lungo il Bacino versano in stato di rovina e abbandono.

Produzione: nell'area dei bacini, cantieristica e realizzazione, nonché manutenzione del sistema MOSE: Consorzio Venezia Nuova; i Cantieri Arsenale Venezia; l'Azienda Comunale Trasporti Venezia. L'area della Nuovissima è utilizzata come banchina di attracco per i mezzi navali in riparazione. Nella zona delle tese è presente la società Thetis, CNR e spazi espositivi. La Thetis occupa anche l'area dei Lamierini. Gli edifici delle Galeazze sono utilizzati dal comune e dalla società remiera.

Esposizione e spettacolo: Sono assegnati alla Biennale gli edifici a sud ed est della Darsena, fatta eccezione per quelli in uso alla marina.

Residenziale: L'area delle Casermette, realizzata durante la prima guerra mondiale come supporto ai militari impiegato nei sommergibili. Attualmente ospitano il personale della Capitaneria di Porto e sono stati restaurati. La caserma dei sommergibilisti, lungo i bacini, non è mai stata mai ultimata, e versa in stato di abbandono.

8.2.2 Descrizione dell'Intervento

L'impianto di BIO₂REMEDIATION®, in questo caso è consistito di una parte a terra (montata su un pontone ormeggiato a riva) dove è stato posizionato un serbatoio di ossigeno liquido, una torre di gassificazione ed una centralina di controllo per il flusso di ossigeno in uscita. Attraverso una tubazione in acciaio inox l'ossigeno gassificato è stato condotto a delle tubazioni in materiale plastico semiporose adagiate ed ancorate sul fondo del canale che diffondono l'ossigeno in maniera uniforme per tutta la larghezza del bacino.

Sono state condotte due campagne di campionamento, prima e dopo l'areazione, in tre punti (Immagine 8.4), denominati A, B e C. Il punto A corrisponde ad una zona distante 50

m dagli augelli, non interessata dall'ossigenazione; il punto B davanti agli augelli, in una zona pienamente interessata dall'ossigenazione; il punto C in una zona interessata dall'ossigenazione.

Per ogni punto è stata estratta una carota prima e dopo l'intervento, per un totale di sei carote. Le carote corrispondenti a prima dell'ossigenazione sono state indicate come A2, B2, C2, mentre quelle del dopo intervento come A4, B4, C4. Sono stati analizzati gli stessi IPA presenti in questo lavoro, ovvero i 16 IPA prioritari indicati dalle metodiche US EPA.

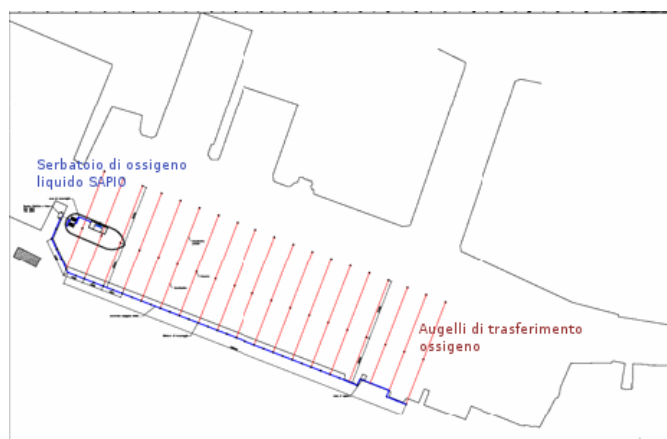


Immagine 8.4: Schema dell'impianto di ossigenazione forzata

La parte analitica ha previsto le tre fasi:

1. Estrazione solido-liquido con estrattore in pressione Pressure Solvent Extractor (PSE one) e come liquido estraente esano;
2. Purificazione dei campioni: anidrifcazione con Na_2SO_4 , desolfurazione e purificazione con cromatografia liquido-solido adottando il sistema automatico di purificazione su colonna di silice neutra Power Prep System, e come solvente soluzioni di n-esano e n-esano/diclorometano (1:1 v/v) alternate;
3. Analisi gascromatografica con rivelatore a spettrometria di massa (Trace GC/MS 2000 Thermofinnigan) in modalità SIM.
4. Precedentemente all'estrazione sono stati aggiunti al campione standard interni per poter convertire i valori delle aree dei picchi in concentrazioni di inquinanti e valutare la bontà della procedura analitica.

La carota A è stata esclusa dalla valutazione dei dati in quanto troppo distante dall'area di intervento. Di fatto le concentrazioni degli IPA in questa carota hanno registrato variazioni temporali disordinate, molte delle quali in positivo. Si è scelto come rappresentativo il campionamento effettuato nella posizione C, dove si è registrato un effettivo abbattimento degli inquinanti. I tassi di abbattimento sono esposti nella Tabella 8.2. L'inquinante con i tassi di abbattimento più elevati è stato il crisene. Per i dati relativi alle altre due carote si rimanda all'Allegato (Grafico 12.2).

Sono di seguito riportati Grafici a colonna (Grafici 8.1, 8.2, 8.3, 8.4) che mettono a confronto i livelli di concentrazione di ogni singolo IPA in ognuno degli spessori presi in considerazione. Va sottolineato che le scale non sono identiche e ogni Grafico fissa il

proprio massimo nel punto più funzionale alla stima delle differenza fra ogni colonna.

Carota		Carota C2, prima dell'ossigenazione					Carota C4, dopo l'ossigenazione			
Profondità (cm)		0-2	2-4	4-6	6-8	8-10	0-4	4-6	6-8	8-10
IPA leggeri (ng/g d.w.)	Napht	66.91	10.93	90.45	90.88	26.53	14.32	32.30	9.73	27.57
	Ace	9.09	13.58	1.98	13.36	15.71	8.34	13.59	3.64	7.72
	Acy	8.19	4.68	15.66	12.00	9.26	6.68	11.30	6.85	6.63
	Fl	3.52	4.50	18.04	15.00	13.75	14.43	13.03	11.67	10.94
	Ant	–	–	174.45	1.29	0.84	89.32	136.14	114.01	118.53
	Phe	26.47	5.71	90.50	6.81	6.99	29.72	41.91	7.54	24.63
IPA pesanti (ng/g d.w.)	Fluo	243.44	358.95	888.53	336.83	503.36	305.20	420.80	240.29	360.83
	Pyr	39.44	255.93	485.37	235.74	326.27	245.92	329.65	185.06	284.04
	BaA	125.48	157.82	287.99	131.61	180.62	39.12	105.67	112.55	171.28
	Chry	94.55	1653.96	2954.52	1343.70	1879.90	41.00	107.50	187.04	188.59
	BaP	5.07	198.84	323.18	187.93	256.63	60.46	129.86	208.72	194.24
	BbF	118.42	150.75	228.96	140.36	196.34	45.24	98.59	132.93	127.23
	BkF	120.50	171.11	259.94	159.32	222.90	45.70	101.82	41.20	89.92
	BghiP	1164.48	105.38	145.41	94.29	149.56	32.95	66.32	107.36	99.37
	IndP	99.13	95.98	147.65	78.02	147.57	33.49	62.40	121.27	108.01
	DbahA	52.64	5.62	46.95	22.91	42.03	9.83	19.25	27.09	27.94
Σ IPA (ng/g d.w.)		2177.32	6159.61	6159.61	2870.04	3978.24	1021.73	1690.13	1516.93	1847.46

Tabella 8.3: Abbattimento percentuale della degli IPA nella carota C lungo la profondità, prima e dopo l'intervento all'Arsenale.

Carota		Carote C, abbattimenti (%)				Media abbattimenti (%)	
Profondità (cm)		2-4	4-6	6-8	8-10	Media	Dev. St.
IPA leggeri	Napht	63.2	64.3	89.3	*	72.3	14.8
	Ace	26.4	*	72.8	50.9	50.0	23.2
	Acy	*	27.8	42.9	28.4	33.1	8.5
	Fl	*	27.8	22.2	20.4	23.5	3.8
	Ant	*	22.0	*	*	22.0	
	Phe	*	53.7	*	*	53.7	
IPA pesanti	Fluo	*	52.6	28.7	28.3	36.5	13.9
	Pyr	*	32.1	21.5	12.9	22.2	9.6
	BaA	72.4	63.3	14.5	5.2	38.8	33.9
	Chry	95.3	96.4	86.1	90.0	91.9	4.8
	BaP	40.7	59.8	*	24.3	41.6	17.8
	BbF	66.4	56.9	5.3	35.2	41.0	27.1
	BkF	68.7	60.8	74.1	59.7	65.8	6.8
	BghiP	94.8	54.4	*	33.6	60.9	31.1
	IndP	65.7	57.7	*	26.8	50.1	20.5
	DbahA	66.3	59.0	*	33.5	52.9	17.2
Σ IPA (ng/g d.w.)		75.5	72.6	*	53.6	67.2	11.9

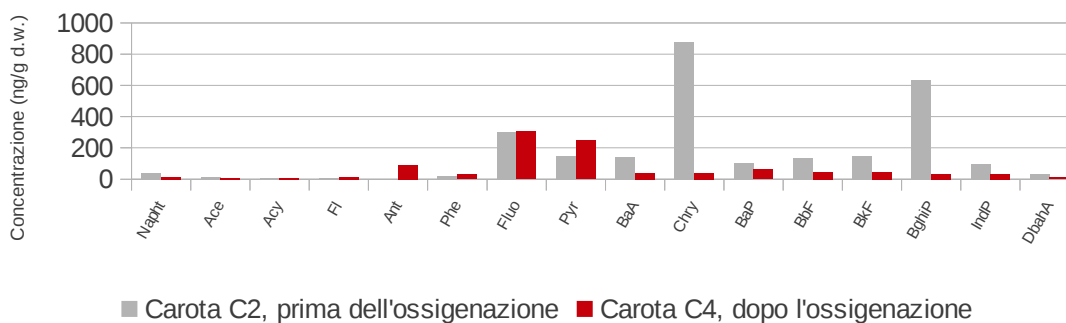
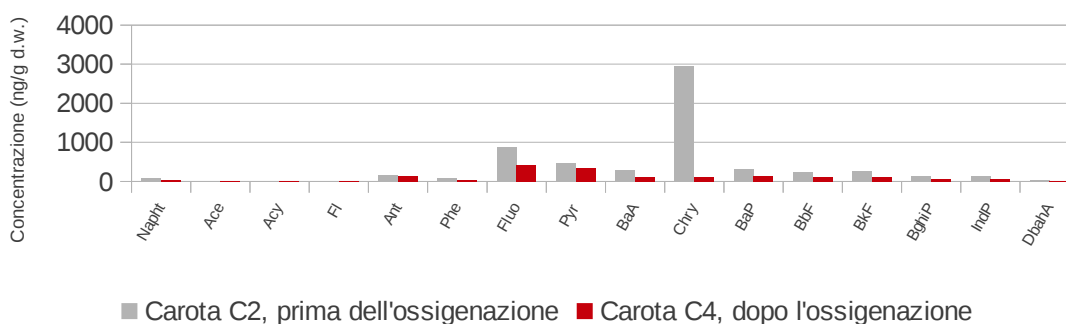
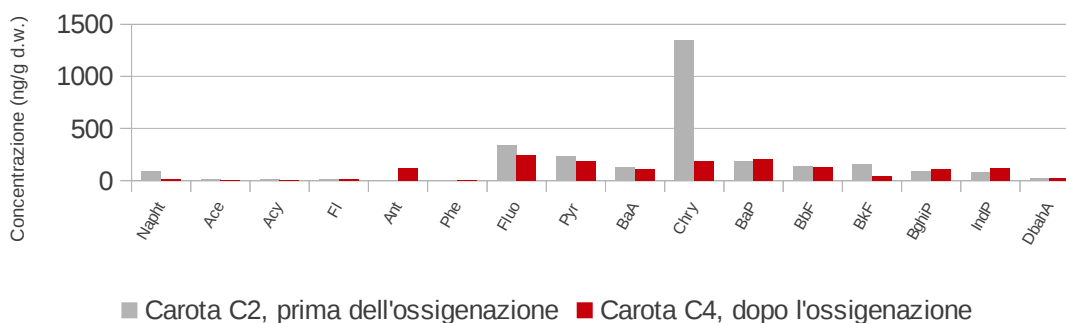
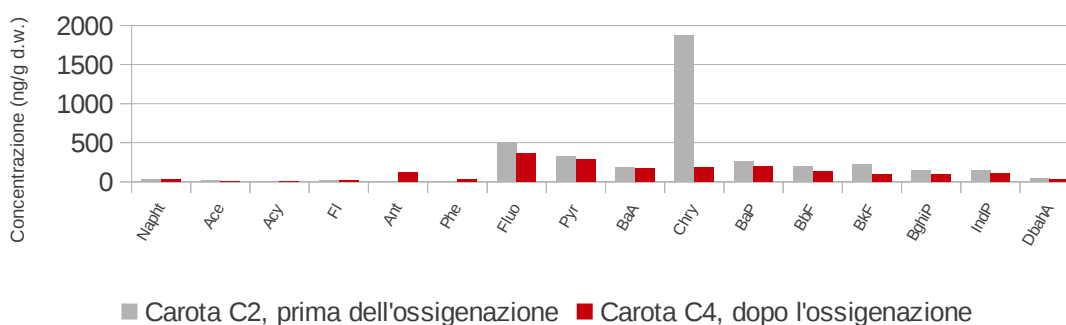
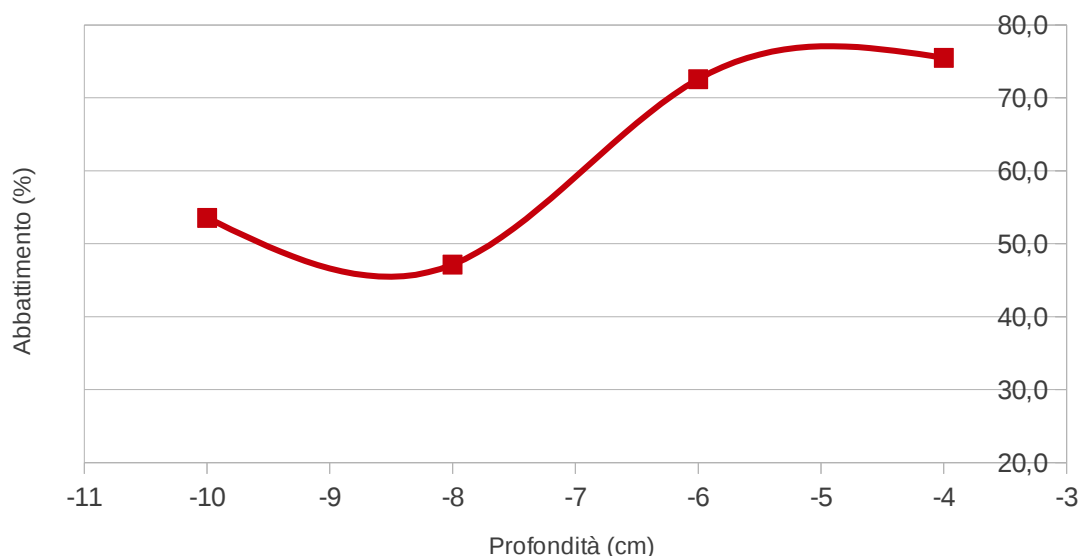
Grafico 8.1: Variazioni delle concentrazioni carota C, 0-4 cm**Grafico 8.2: Variazioni delle concentrazioni carota C, 4-6 cm****Grafico 8.3: Variazioni delle concentrazioni carota C, 6-8 cm****Grafico 8.4: Variazioni delle concentrazioni carota C, 8-10 cm**

Grafico 8.5: Abbattimento percentuale della sommatoria degli IPA nella carota C lungo la profondità, prima e dopo l'intervento all'Arsenale



Dall'analisi dei dati è emersa una evidente discrepanza: gli strati più superficiali, quindi quelli maggiormente interessati dall'ossigenazione forzata, non hanno registrato le percentuali di abbattimento maggiori. Questa incoerenza può essere spiegata nuovamente tenendo conto dei fattori di disturbo esterni a cui i sedimenti superficiali sono più esposti: sospensione e rimescolamento dovuto a traffico veicolare e correnti, deposizione di altro sedimento da zone vicine, deposizione del particolato e inquinamento per il traffico di barche e navi.

Va comunque segnalato che, anche grazie all'ossigenazione della colonna d'acqua, la zona dell'Arsenale ha avuto un netto miglioramento su scala macroscopica, tornando ad essere popolata dalla fauna ittica e da fanerogame marine. Di fatto l'abbattimento delle concentrazioni di composti organici mediante l'incentivazione della degradazione aerobica non era l'unico scopo dell'intervento: attraverso l'ossigenazione forzata si è voluto creare uno strato di sedimento superficiale ossidato che potesse agire come strato di *capping* fra la colonna d'acqua e i sedimenti più profondi ancora contaminati, e dove il benthos potesse attecchire. Si sono così volute porre le condizioni essenziali, contaminazione non eccessiva e aerobiosi, per il ripristino di un ecosistema in grado di mantenersi e detossificarsi autonomamente.

9. MATERIALI E METODI

Di seguito si discute del metodo applicato in questo lavoro.

9.1 Campionamento

La campagna di campionamento si è svolta su due bacini adiacenti, canale delle Galeazze, in cui si era svolto l'intervento di BIO₂REMEDIATION, e dell'Arsenale Vecchio, che non l'aveva ricevuto. Per l'area trattata sono stati effettuati otto campionamenti, e per quella trattata quattro.



Immagine 9.1: Darsene dell'Arsenale Vecchio e delle Galeazze da foto satellitare



Immagine 9.2: Vista dall'alto delle Darsene dell'Arsenale Vecchio, e, in secondo piano, delle Galeazze



Immagine 9.3: Porta della Darsena delle Galeazze

Per ogni punto di campionamento sono stati effettuati tre prelievi con benna manuale. I tre campioni di sedimento sono quindi stati miscelati manualmente in una vaschetta e ne è quindi stata raccolta un'aliquota, campione composito, e sigillata in un recipiente di plastica PET. I recipienti sono stati immediatamente riposti in refrigeratore a -20°C e scongelati a temperatura ambiente per le analisi.

9.2 Rapporti secco/umido

Al fine di non compromettere l'analisi degli IPA bassobollenti l'estrazione è avvenuta su sedimenti umidi e gli estratti sono stati successivamente anidrificati. Per ottenere un fattore

di conversione da sedimento umido a secco sono state pesate tre aliquote per ogni campione prima e dopo l'essiccazione in stufa a 80°C per 48h. Il rapporto fra la media dei tre pesi delle aliquote dopo l'essiccazione e la media dei tre pesi prima dell'essiccazione fornisce un valore di conversione da peso umido a secco che va diviso per la concentrazione ottenuta dalle analisi strumentali.

9.3 Standard

Si sono preparate soluzioni eluite in isotano di standard interni e standard esterni a concentrazioni note. Gli standard interni sono soluzioni di: fluorene d10 (Cambridge Isotope Laboratories, Labservice, Bologna), isotopo deuterato che serve a valutare quale sia la perdita di analiti durante la procedura di preparazione e analisi; isotopi ¹³C (Cambridge Isotope Laboratories, Labservice, Bologna) del acenaftilene, fenantrene, benzo[a]pirene. Gli isotopi ¹³C servono invece a porre il valore di proporzionalità fra area dei picchi sul cromatogramma e concentrazione corrispondente. La soluzione standard esterni è stata preparata con la soluzione dei già citati isotopi ed una soluzione certificata contenente i 16 IPA prioritari US EPA a concentrazioni note, PAH-Mix 9 (Dr. Ehrenstorfer, Reference Materials, Augusta, Germania).

9.4 Estrazione

Gli IPA sono stati estratti dal sedimento utilizzando l'estrattore in pressione *Pressure Solvent Extractor* (PSE one, Applied Separations, LabService Analytica) e come solvente di estrazione il n-esano.

Dapprima sono stati lavati i materiali di riempimento (sabbia di otawa e terra di diatomee) attraverso appositi programmi di lavaggio con n-esano e diclorometano del PSE one. In tre dei programmi di lavaggio avviati il solvente espulso dall'ultimo ciclo, con n-esano è stato raccolto ed è stata aggiunta un'aliquota nota di soluzione di standard interni. Queste soluzioni sono state adottate come bianchi.

Per ogni campione è stata pesata un'aliquota di sedimento umido dai due ai tre grammi e quindi posta nella vessel di estrazione assieme a materiali di riempimento (terra di diatomee e sabbia di otawa) precedentemente lavati, ed un'aliquota di standard interni. La vessel è quindi stata inserita nel PSE one ed è stato avviato il programma di estrazione.

9.5 Concentrazione e purificazione

I campioni estratti successivamente sono stati anidrificati attraverso agitazione con solfato di sodio anidro e concentrato nell'evaporatore a flusso di azoto Turbovap II (Biotage AB) con sensore ottico.

I campioni e i bianchi sono quindi stati purificati con una cromatografia liquido-solido, adottando il sistema Pover Prep (Dioxin Prep, Fluid Management System Inc., LabService Analytica). La fase solida è stata una colonna usa e getta in silice neutra, quella liquida soluzioni di n-esano e n-esano/diclorometano (1:1 v/v) usate in successione.



Immagine 9.4: Sistema di estrazione automatica PowerPrep



Immagine 9.5: Sistema di concentrazione a flusso di azoto TurboVap

Gli estratti purificati di campioni e bianchi sono stati sottoposti ad una nuova concentrazione in Turbovap con sensore ottico, successivamente eluiti con un'aliquota di isottano e poi nuovamente concentrati in Turbovap con sensore ottico e poi controllo dell'operatore, al fine di portare il volume ad un valore idoneo all'utilizzo in GC-MS. Lo scopo del ciclo concentrazione-eluzione-concentrazione è stato quello di ottenere una miscela di solventi maggiormente funzionale all'analisi in GC-MS.

9.6 Analisi

Per ogni purificato è stata quindi iniettata in GC-MS (Trace GC/MS 2000 Thermofinnigan).

Sono state iniettate aliquote di campioni, bianchi, standard esterni e solo solvente. Queste ultime iniezioni servono a fornire allo strumento un bianco interno, e sono appunto dette linee di base.



Immagine 9.6: Gascromatografo GC-MS Thermofinnigan

9.6.1 Condizioni strumentali del gascromatografo

Temperatura dell'iniettore: 280°C;

Sistema di iniezione tipo splitless; tempo di chiusura della valvola di splittaggio 1 minuto; flusso di splittaggio pari a 10 ml/minuto;

Colonna gascromatografica capillare HP 5-MS (fase stazionaria 5% fenil, 95% metil polisilossano), lunghezza 60 m, diametro 0.25 mm, spessore del film della fase stazionaria 0.25 µm.;

Carrier utilizzato per il flusso in colonna: elio ultrapuro. Tecnica utilizzata: a flusso costante e pari a 0.80 ml/minuto.

9.6.2 Temperatura programmata della colonna

Temperatura iniziale: 60°C per 1 minuto;

Tasso di incremento della temperatura pari a 20°C/minuto;

Temperatura di 140°C per 10 minuti;

Tasso di incremento della temperatura pari a 10°C/minuto;

Temperatura di 300°C per 25 minuti;

9.6.3 Condizioni strumentali dello spettrometro di massa

Temperatura della sorgente: 200°C ;

Temperatura del transfer line: 300°C;

Voltaggio del detector: 350 V;

Tecnica impiegata: SIM (Select Ion Monitoring);

Software di gestione: Xcalibur 1.2 .

9.7 Quantificazione

Il cromatogramma prodotto contiene aree che devono essere convertite in quantità assolute (nanogrammi). A tale scopo vengono utilizzati gli standard interni ed esterni, in quanto la proporzionalità fra l'area dei picchi degli standard e le quantità note degli standard stessi può essere utilizzata per ricavare la quantità di analita dall'area del suo picco.

Dei marcati, l'acenaftilene ¹³C viene usato per quantificare gli IPA bassobollenti, che vanno dall'acenaftilene al fluorene; il fenantrene ¹³C per gli idrocarburi di peso molecolare medio, dal fenantrene al pirene; il benzo(a) pirene ¹³C dal benzo[a]antracene al dibenzo[a,h]antracene. I marcati, non essendo presenti in natura, sono caratterizzati da rapporti massa/carica e tempi di ritenzione unici, e sono quindi univocamente identificabili.

Dapprima si integrano le aree dei cromatogrammi degli standard esterni. Questo ha la finalità di elaborare i *fattori di risposta* (FR), valori adimensionali che vanno poi moltiplicati per la concentrazione degli inquinanti rinvenuti nei campioni per convertire la quantità dedotta dai cromatogrammi in quella effettivamente presente. Ovvero:

$$FR_i = \frac{A_{iNATIVO}}{A_{jMARCATO}} \cdot \frac{m_{jMARCATO}}{m_{iNATIVO}} \quad (7.1)$$

$A_{iNATIVO}$ area ottenuta dall'integrazione per il composto nativo, ovvero uno dei 16 IPA prioritari US EPA;

$A_{jMARCATO}$ area ottenuta dall'integrazione per uno dei tre marcato, a seconda di quale sia il peso molecolare del composto nativo;

$m_{jMARCATO}$ la quantità assoluta nota a priori del marcato nella soluzione di standard esterni;

$m_{iNATIVO}$ la quantità assoluta nota a priori del nativo nella soluzione di standard esterni.

Viene calcolato un FR per ognuno dei 16 analiti. Gli standard esterni sono quindi rapporti che indicano lo scostamento della quantità reale da quella che lo strumento misura. Se lo strumento misurasse esattamente la quantità reale, gli FR sarebbero unitari e ci porremmo nella condizione ideale:

$$\frac{m_{iNATIVO}}{m_{jMARCATO}} = \frac{A_{iNATIVO}}{A_{jMARCATO}} \quad (7.2)$$

Si passa quindi alla quantificazione degli analiti nei campioni. La formula 7.1 è valida anche in questo caso, ma deve essere usata per calcolare la concentrazione degli analiti, che è l'incognita. Quindi:

$$m_{iNATIVO} = \frac{\frac{A_{iNATIVO}}{A_{jMARCATO}} \cdot m_{jMARCATO}}{FR_i} \quad (7.3)$$

$m_{iNATIVO}$ la quantità assoluta di analita, nella soluzione di standard esterni, da calcolare;

$A_{iNATIVO}$ area ottenuta dall'integrazione per l'analita in questione;

$A_{jMARCATO}$ area ottenuta dall'integrazione per uno dei tre marcato;

$m_{jMARCATO}$ la quantità assoluta nota a priori del marcato nel campione;

FR_i fattore di riferimento per l'analita calcolato dall'analisi degli standard esterni.

Si ottiene quindi la quantità assoluta di analita, che, divisa per la massa dell'aliquota di sedimento pesata all'inizio della procedura, fornisce la concentrazione su peso umido. Se questo valore viene diviso per il rapporto secco/umido, si ottiene l'ipotetica concentrazione su peso secco.

$$C_i d.w. = \frac{C_i w.w.}{secco/umido} \quad (7.4)$$

10. RISULTATI E DISCUSSIONE

10.1 Risultati

La quantificazione ha prodotto i seguenti valori di concentrazione per ognuno dei 16 IPA prioritari US EPA. In ognuno dei campioni.

Tabella 10.1: valori di concentrazione dei 16 IPA prioritari nei campioni della zona trattata									
IPA	AR 1	AR 2	AR 3	AR 4	AR 5	AR 7	AR 8	AR 9	
IPA leggeri (ng/g d.w.)	Naph	410.32	543.04	293.24	598.97	865.85	389.63	89.63	257.47
	Ace	58.48	158.55	157.90	389.25	180.58	95.95	103.52	125.87
	Acy	125.15	184.73	134.67	242.18	323.77	179.01	64.67	104.33
	Fl	170.11	210.05	180.34	232.11	299.04	170.82	102.39	164.12
	Phe	900.42	915.55	599.50	740.01	546.54	646.82	567.96	432.02
	Ant	293.79	491.22	328.16	465.71	415.94	276.11	260.29	259.13
IPA pesanti (ng/g d.w.)	Fluo	3506.87	3407.87	2213.10	3641.88	2476.37	1219.76	1642.93	1380.42
	Pyr	3011.83	3232.33	1924.12	3439.63	2444.95	1056.96	1462.19	1233.47
	BaA	682.33	920.43	593.04	988.88	579.38	350.14	435.62	427.37
	Chry	517.98	684.27	425.94	667.18	411.03	300.15	377.27	420.72
	BaP	764.13	1022.95	653.77	972.04	617.07	362.85	416.52	561.57
	BbF	619.73	752.09	474.69	655.59	472.57	342.27	388.60	379.87
	BkF	922.28	1140.46	803.64	999.83	703.09	460.12	627.74	480.79
	BghiP	590.42	995.23	738.98	759.08	652.04	323.65	342.84	454.21
	IndP	369.69	678.64	497.49	535.75	472.73	275.71	325.88	318.93
	DbahA	165.43	258.51	170.30	165.11	135.25	0.00	91.67	90.78
Sommatorie	ΣIPA	13108.98	15595.91	10188.90	15493.23	11596.19	6449.96	7299.72	7091.08
	ΣIPA leggeri	1958.29	2503.13	1693.82	2668.24	2631.72	1758.34	1188.47	1342.94
	ΣIPA pesanti	11150.69	13092.78	8495.08	12824.99	8964.47	4691.62	6111.25	5748.14

Tabella 10.2: Valori di concentrazione dei 16 IPA prioritari nei campioni della zona non trattata					
IPA	AR 10	AR 11	AR 12	AR 13	
IPA leggeri (ng/g d.w.)	Naph	4959.66	429.83	396.32	348.70
	Ace	8444.55	54.03	115.65	80.91
	Acy	28634.79	61.38	62.96	52.84
	Fl	27214.62	133.85	81.43	78.15
	Phe	20199.48	275.52	209.22	335.74
	Ant	2957.73	317.66	181.90	172.06
IPA pesanti (ng/g d.w.)	Fluo	36582.67	1058.12	969.81	1154.94
	Pyr	29361.72	916.48	1122.15	1025.62
	BaA	36080.69	304.85	348.90	269.34
	Chry	27116.71	210.88	263.48	219.77
	BaP	41343.23	339.26	449.47	227.50
	BbF	23408.13	218.28	301.32	227.37
	BkF	47915.68	347.33	530.11	302.09
	BghiP	33330.37	308.22	552.09	180.10
	IndP	20464.94	190.17	355.23	121.40
	DbahA	6332.95	0.00	133.67	44.57
Somatorie	ΣIPA	394347.92	5165.86	6073.72	4841.12
	ΣIPA leggeri	92410.84	1272.26	1047.48	1068.41
	ΣIPA pesanti	301937.09	3893.60	5026.24	3772.71

Emerge, molto chiaramente, la predominanza dei valori di concentrazione del campione AR10, che supera di uno o due ordini di grandezza dei rispettivi valori per gli altri campioni.

Se le Tabelle vengono tradotte in Grafici a colonne (Grafici 10.1, 10.2, 10.3), la differenza fra AR10 e gli altri punti risulta evidente. I valori molto elevati di AR10 rendono molto difficoltoso stimare visivamente le differenze fra gli altri campioni in una normale scala lineare. Occorre quindi modificare la rappresentazione dell'asse delle ordinate. Nel Grafico 10.2 viene riportata solo la parte bassa dei valori, con un massimo fissato a 18000 ng/g d.w., quelli in cui rientrano gli altri undici campioni, mentre nel Grafico 10.3 viene adottata la scala logaritmica.

Grafico 10.1: Concentrazioni complessive di tutti i campioni

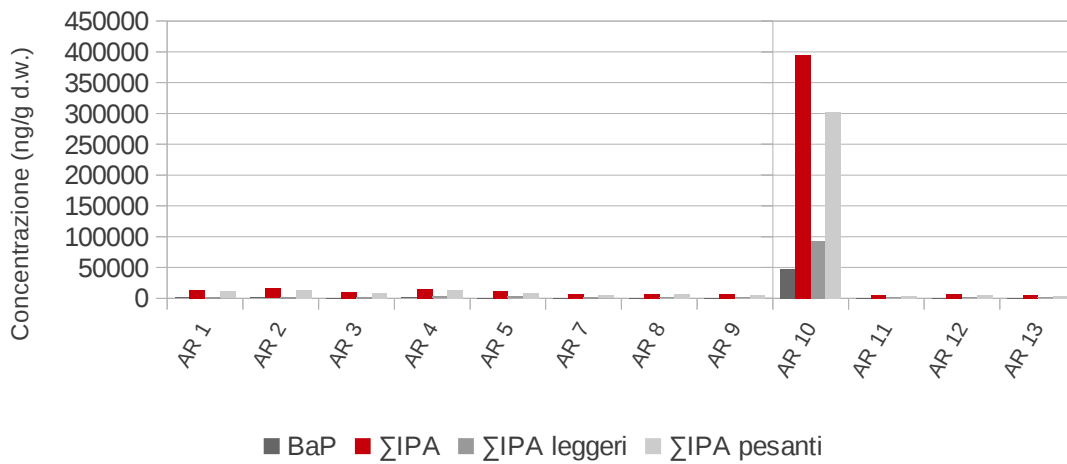


Grafico 10.2: Concentrazioni complessive di tutti i campioni

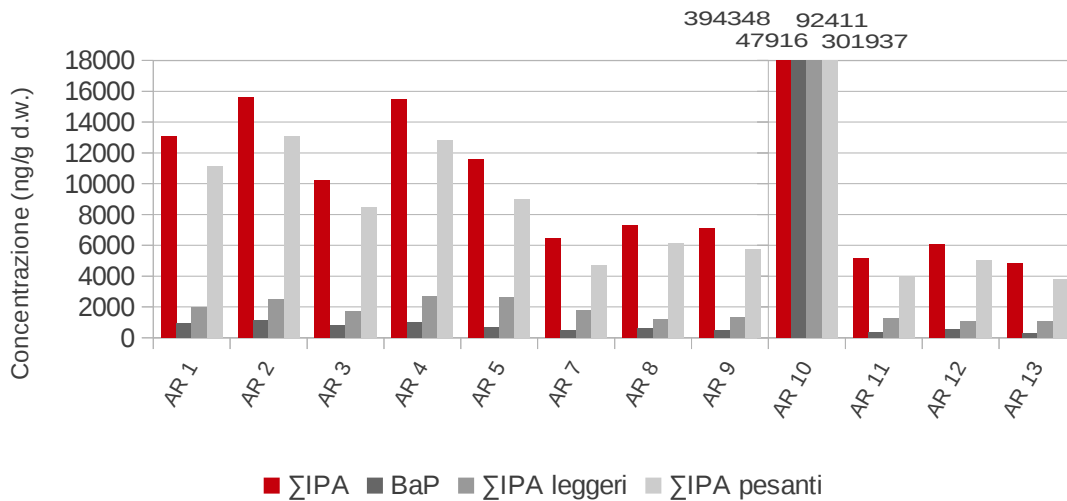
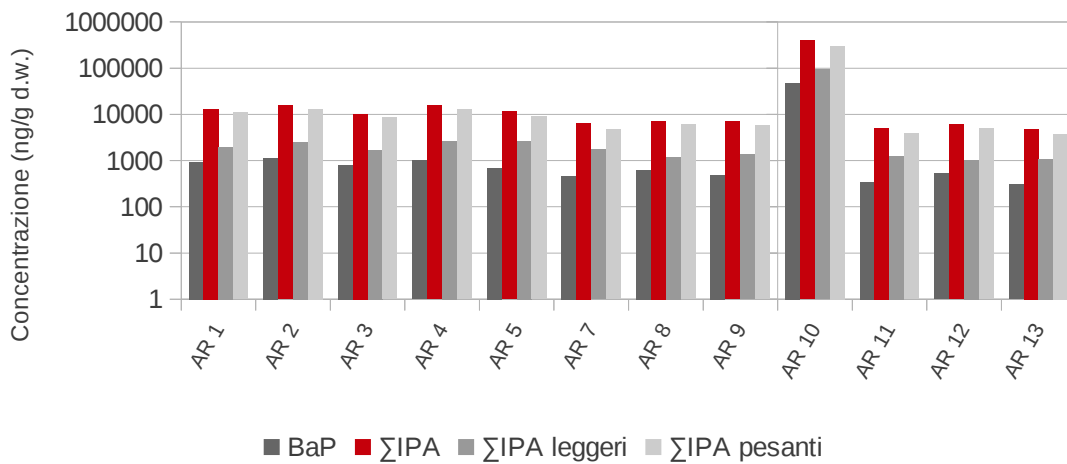


Grafico 10.3: Concentrazioni complessive di tutti i campioni, Scala logaritmica

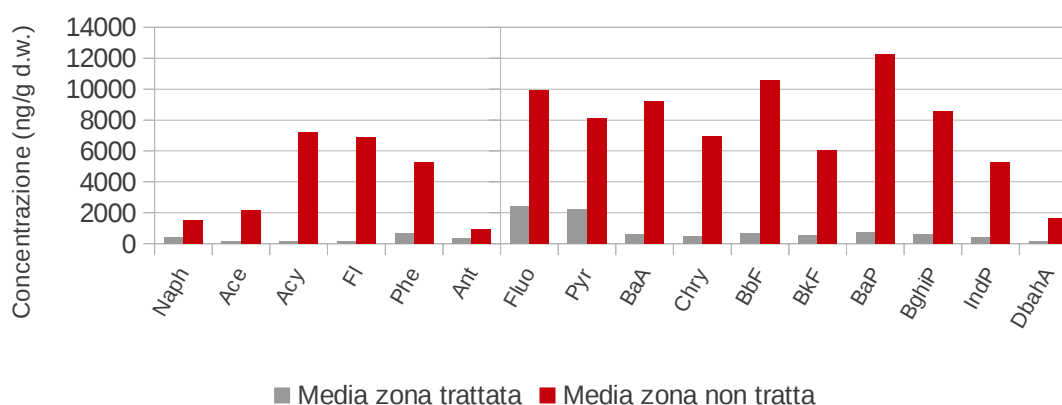


I valori estremamente elevati del punto AR10 comportano che la media delle concentrazioni della zona trattata sia nettamente inferiore a quella della zona non trattata, come si può notare di seguito dalla Tabella 10.3.

Tabella 10.3: media delle concentrazioni della zona trattata e non trattata e loro confronto, in termini di differenza assoluta e relativa (percentuale)					
IPA		Media zona trattata	Media zona non trattata	Differenza di concentrazione	Differenza di concentrazione (%)
IPA leggeri (ng/g d.w.)	Naph	431.02	1533.63	1102.61	71.90%
	Ace	158.76	2173.79	2015.02	92.70%
	Acy	169.81	7203.00	7033.18	97.64%
	Fl	191.12	6877.01	6685.89	97.22%
	Phe	668.60	5254.99	4586.38	87.28%
	Ant	348.79	907.34	558.54	61.56%
IPA pesanti (ng/g d.w.)	Fluo	2436.15	9941.38	7505.23	61.56%
	Pyr	2225.69	8106.49	5880.81	75.49%
	BaA	622.15	9250.95	8628.80	72.54%
	Chry	475.57	6952.71	6477.14	93.27%
	BaP	671.36	10589.86	9918.50	93.16%
	BbF	510.68	6038.77	5528.10	93.66%
	BkF	767.24	12273.80	11506.56	91.54%
	BghiP	607.06	8592.70	7985.64	93.75%
	IndP	434.35	5282.94	4848.58	92.94%
	DbahA	134.63	1627.80	1493.16	91.78%
	Sommatorie	ΣIPA	10853.00	102607.16	91754.16
ΣIPA leggeri		1968.12	23949.75	21981.63	75.49%
ΣIPA pesanti		8884.88	78657.41	69772.53	72.54%

La differenza risulta evidente nel seguente Grafico a colonne (Grafico 10.4), che pone a confronto le concentrazioni delle medie dei singoli IPA nella zona trattata e non trattata.

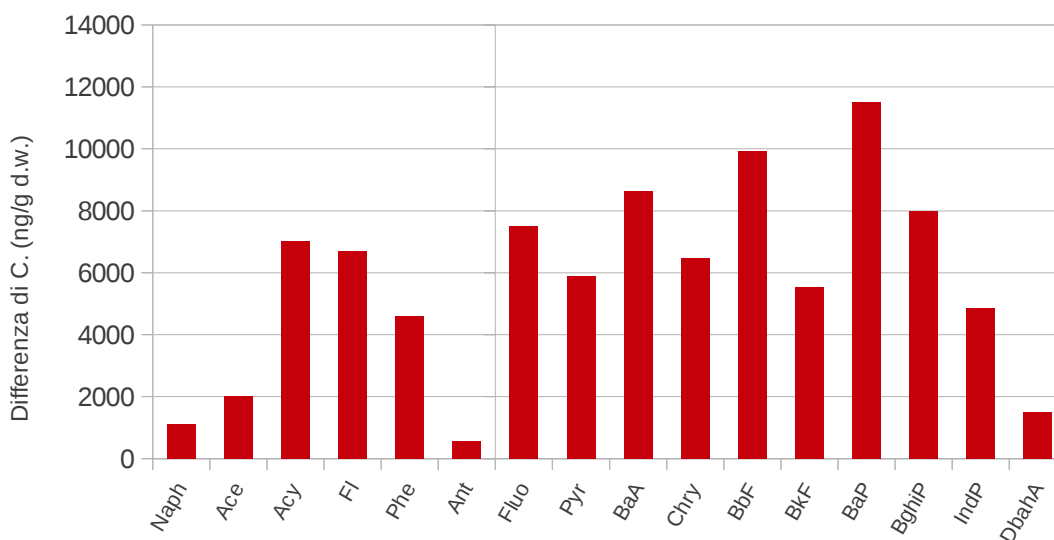
Grafico 10.4: Concentrazioni dei singoli IPA, media della zona tratta e non trattata.



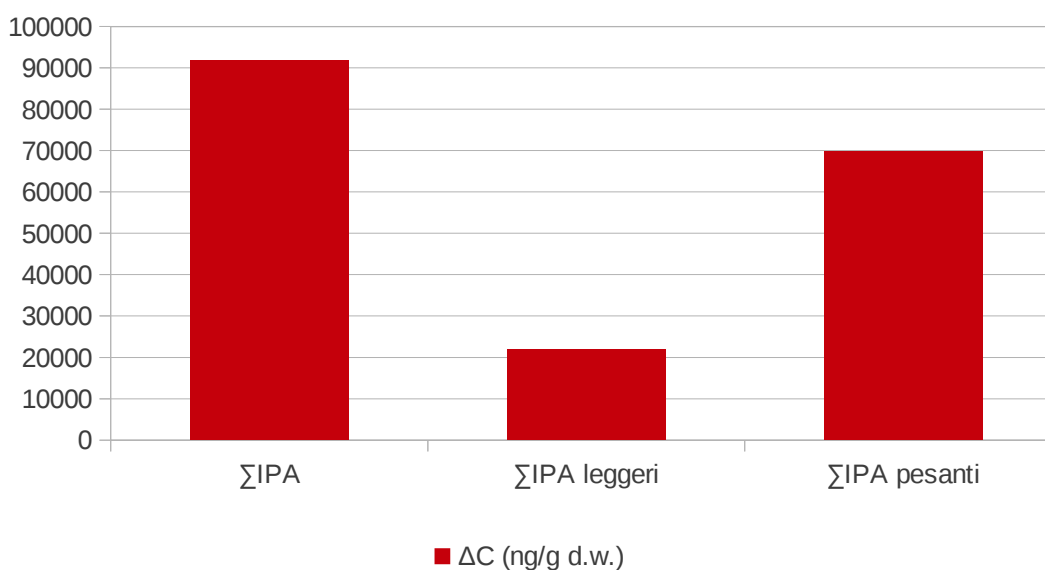
Da notare come gli IPA pesanti, e quindi quelli più pericolosi, abbiano le concentrazioni assolute più elevate rispetto ai leggeri. Soprattutto il BaP della zona non trattata. Bisogna quindi supporre che i processi di arricchimento/rimozione in gioco siano a favore di un accumulo degli IPA pesanti.

Di seguito si espongono grafici (Grafico 9.5 e 9.6) che esprimono la differenza di concentrazione fra le due zone.

**Grafico 10.5: differenze di concentrazione dei singoli IPA
Media delle zone trattata e non trattata**



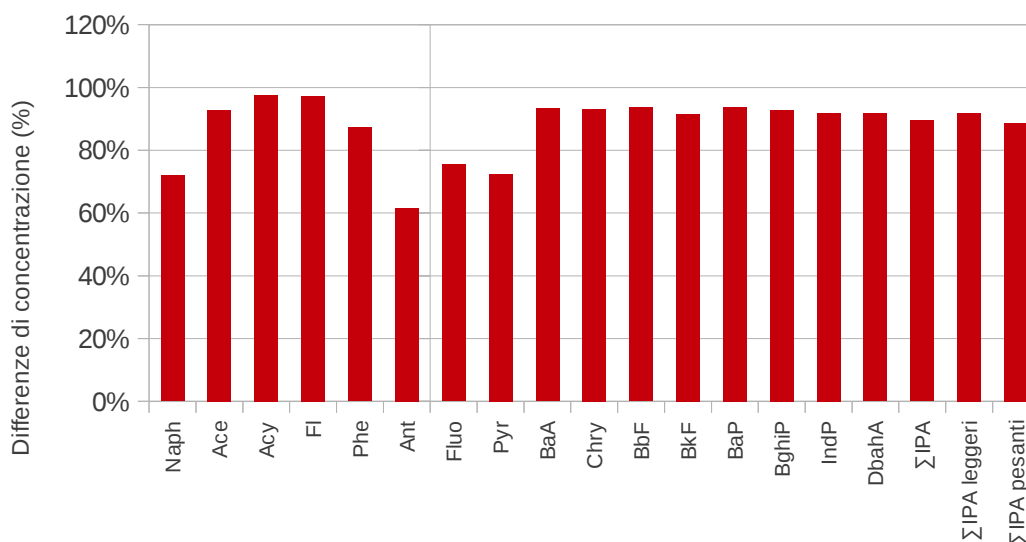
**Grafico 10.6: differenze di concentrazione sommatorie di IPA
Zona trattata e non trattata**



Le differenze assolute sono fortemente disomogenee per ciascuno degli IPA, e non è riconoscibile un modello in grado di spiegare tale disomogeneità attraverso una correlazione con il peso molecolare e quindi la tendenza a degradarsi, volatilizzare o adsorbirsi sul particolato.

Se le concentrazioni assolute vengono rapportate alle concentrazioni medie dell'area non trattata, ne risultano differenze relative molto più simili fra di loro (Grafico 10.7). Fluo e Pyr hanno differenze relative inferiori a quelle degli IPA più pesanti e ciò non è compatibile con normali modelli di abbattimento, essendo la recalcitranza degli IPA positivamente correlata col suo peso molecolare.

**Grafico 10.7: differenze percentuali di concentrazione di singoli IPA
Medie della zona trattata e non trattata**



10.2 Discussione

Si presume che nel tempo intercorso fra il trattamento di ossigenazione forzata e la successiva campagna di campionamento non siano avvenuti fenomeni di contaminazione dei sedimenti che abbiano agito in maniera differente sui due bacini. Tale presupposto risulta verosimile in quanto i due bacini sono adiacenti e collegati, e, dato che essi formano un canale che collega i lati nord e sud dell'estremità nord-orientale di Venezia, la corrente di marea tende ad essere molto forte. Ciò comporta una distribuzione uniforme di eventuali agenti contaminanti fra le acque dei due bacini.

1. Data questa premessa si può affermare che i punti della zona in cui è stato eseguito l'intervento di BIO₂REMEDIATION® hanno livelli di contaminazione, che, seppur molto elevati, sono da uno o più ordini di grandezza inferiori a quelli della zona non trattata.
2. Da notare alcune particolarità delle differenze di concentrazione fra area trattata e non trattata:
3. Sono tutte maggiori di zero, ovvero i livelli di concentrazione sono tutti superiori;
4. Le differenze assolute non sono omogenee;
5. Le differenze relative invece sono omogenee per quanto riguarda gli IPA dal BaA in poi (su una scala crescente di massa);
6. Gli IPA pesanti hanno una differenza di concentrazione relativa paragonabili a quelle degli IPA leggeri.

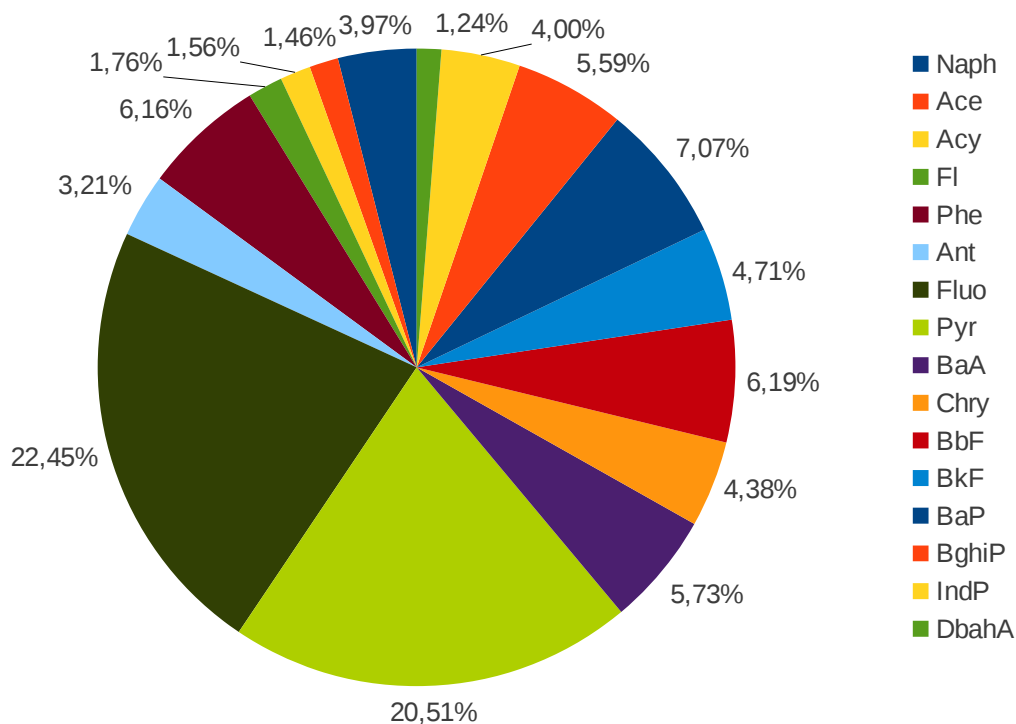
Mantenendo il presupposto che gli apporti di contaminanti non sono differenti da un bacino all'altro, il quadro presenta un'apparente discrepanza, per cui gli IPA più pesanti, e quindi meno mobili, meno idrosolubili, meno degradabili e meno biodisponibili, non sono quelli con le differenze di concentrazione inferiori rispetto agli IPA leggeri.

Tale quadro potrebbe essere spiegato con la presenza, nella zona trattata, di una comunità microbica atta alla degradazione degli IPA pesanti. Le variazioni irregolari delle concentrazioni degli IPA corrisponderebbero quindi alle particolarità di una complessa comunità microbica ambientale. Gli IPA pesanti raramente possono essere unica fonte di carbonio ed energia, ma fonti alternative, che vanno dagli IPA più leggeri alla sostanza organica, non sono fattori limitanti in tale tipologia di sedimenti.

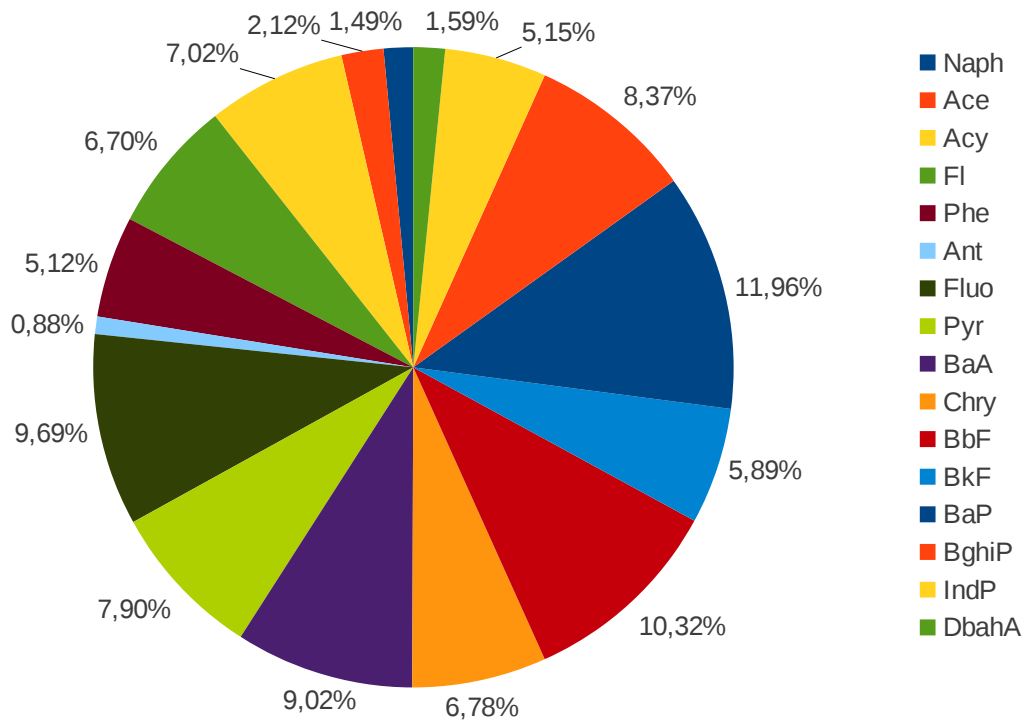
Inoltre, la presenza di una degradazione microbica potrebbe spiegare come mai le differenze relative di concentrazione degli IPA pesanti sono tanto lievi: mano a mano che la concentrazione di un substrato diminuisce, diminuisce anche l'efficacia dei processi metabolici che lo decompongono. Questo poiché la frazione biodisponibile si riduce rispetto a quella non biodisponibile e gli enzimi di degradazione vengono indotti in misura minore. Inoltre, il calo dei contaminanti può comportare cambiamenti nella comunità microbica, per cui possono affermarsi microrganismi meno adatti a tollerare e degradare gli inquinanti organici ma più competitivi sotto altri aspetti.

Le differenze di concentrazioni fra le due zone si traducono in marcate differenze nella distribuzione delle concentrazioni relative dei singoli IPA nell'area trattata e non trattata (Grafici 10.8, 10.9, 10.10).

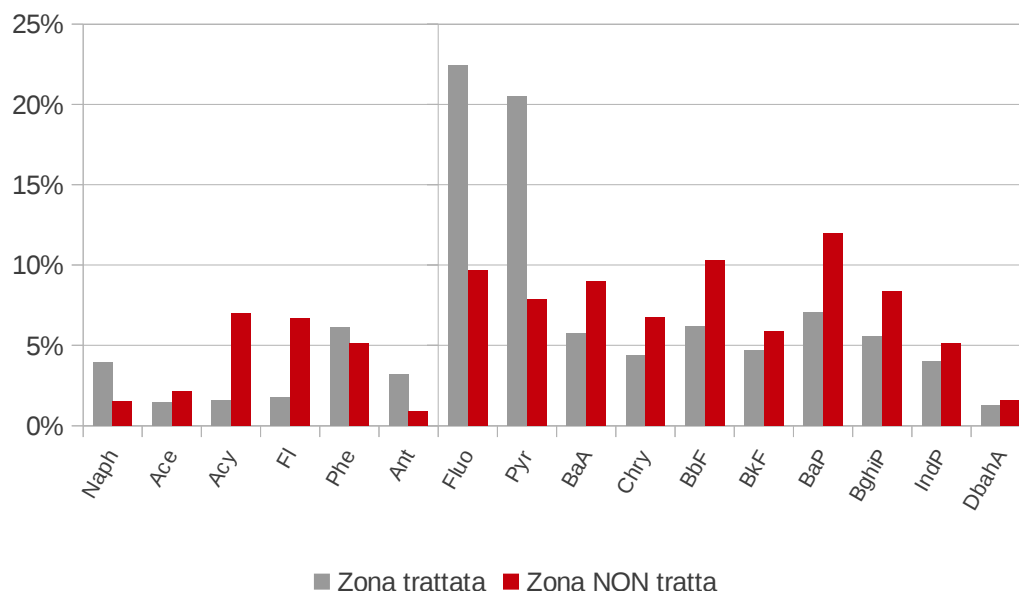
**Grafico 10.8: Concentrazione relativa singoli IPA
Zona trattata**



**Grafico 10.9: Concentrazione relativa singoli IPA
Zona NON trattata**



**Grafico 10.10: Concentrazione relativa singoli IPA
Medie delle zone trattata e non trattata**



Dai Grafici a torta (Grafico 10.8, 10.9) risulta evidente che le concentrazioni relative sono molto meno distribuite nella zona trattata rispetto alla zona non trattata. Nella prima Fluo e Pyr costituiscono complessivamente il 40% degli IPA prioritari US EPA presenti, mentre nella seconda le loro concentrazioni relative non sono superiori a quelle di altri IPA.

Questa distribuzione contrasta con la teoria generale sulla rimozione chimica e biologica degli IPA per cui i primi ad essere degradati sono quelli più pesanti. Per spiegare tale incoerenza si potrebbe supporre che la comunità microbica presente nel sito potrebbe avere carenze nella metabolizzazione di questi due isomeri. Questa ipotesi rimane per ora indimostrabile, poiché gli studi consultati riguardo la degradazione microbica degli IPA (Ho et al., 2000; Juhasz, 1997; Juhasz et al. 1997; Juhasz e Naidu, 2000; Kanali e Harayama, 2000; Lei et al, 2005; Marcon et al, 2007; Muellerer et al., 1989; Schneider et al., 1996; Seo et al. 2009; Xia et al. 2006) concernono sperimentazioni non confrontabili con questa presente per via delle diverse condizioni: scala di laboratorio, quindi miscele semplici e selezione di popolazioni coltivabili, oppure studi su campo selezionando però pochi IPA.

Va inoltre tenuto conto che le due aree hanno livelli di contaminazione differenti in termini di ordini di grandezza: un eventuale apporto di IPA ricco in Fluo e Pyr sarà molto più rilevante per una zona in cui le concentrazioni medie si aggirano sulle centinaia di ng/g piuttosto che in una dove le concentrazioni sono di migliaia di ng/g. La discussione riguardo queste possibili fonti sarà particolarmente rilevante nella parte che concerne l'origine della contaminazione attraverso l'elaborazione di *fingerprints molecolari*, fra i quali il rapporto isomerico basato su Fluo e Pyr è fra i più rilevanti.

Tale apporto potrebbe derivare dalla contaminazione storica del sedimento: l'Arsenale è stato il maggiore cantiere navale di Venezia e la tecnica di curvatura del legno per la

costruzione di barche e navi consiste nell'ammorbidirlo con l'acqua, e, una volta raggiunta la piegatura voluta, asciugarlo con il fuoco. Questo può aver creato depositi puntuali e localizzati di IPA tipici della combustione del legno. Simili depositi possono essere stati creati da altre attività tipiche della costruzione e traffico navali come il lavaggio degli scafi. Questi depositi puntuali possono quindi aver iniziato a rilasciare i loro contaminanti nell'intero bacino, e il loro apporto risulta ovviamente rilevante dove le concentrazioni sono più basse.

Purtroppo manca la letteratura necessaria ad avvalorare anche questa seconda ipotesi, essendo il rilevamento dei 16 IPA prioritari limitato alle pubblicazioni scientifiche e studi *ad hoc*, mentre il monitoraggio da parte dell'Agenzia Regionale per la Protezione dell'Ambiente Veneto (ARPAV) nel comparto aria è limitato alla sommatoria degli IPA e al BaP.

10.2.1 Tossicità equivalente

Per dare una più funzionale valutazione di quale sia la variazione di inquinamento, e non solo contaminazione, fra le due zone, e quindi dare un maggiore significato all'efficacia dell'intervento di BIO₂REMEDIATION®, quale bonifica ambientale, i valori di concentrazione sono quindi stati convertiti in tossicità equivalenti utilizzando tre scale di fattori: TEF elaborati da Nisbet e LaGoy (1992), TEF US EPA, PEF OEHHA (Tabella 10.4).

Tabella 10.4: fattori di conversione in BaP-equivalenti secondo le tre serie di tossicità-cancerogenicità equivalente.				
IPA	TEF US EPA	PEF OEHHA	TEF Nisbet e LaGoy, 1992	
IPA leggeri	Naph	–	–	0.001
	Ace	–	–	0.001
	Acy	–	–	0.001
	Fl	–	–	0.001
	Phe	–	–	0.01
	Ant	–	–	0.01
IPA pesanti	Fluo	–	–	0.001
	Pyr	–	–	0.001
	BaA	0.1	0.1	0.1
	Chry	0.001	0.01	0.1
	BaP	1.00	1.00	1.00
	BbF	0.1	0.1	0.1
	BkF	0.01	0.1	0.1
	BghiP	–	–	0.001
	IndP	0.1	0.1	0.1
	DbahA	1.00	–	5.00

Nisbet e LaGoy nel 1992, sul lavoro di precedenti pubblicazioni, produssero la prima lista completa di fattori di tossicità equivalente da applicare agli IPA. Come già detto nella

parte introduttiva, produrre tali fattori è complesso, data la scarsità di studi presenti, la loro eterogeneità, e l'intrinseca difficoltà del costruire curve dose-risposta per quanto riguarda cancerogeni secondari. Sulla base di questo lavoro si sono sviluppati i successivi.

Primo fra tutti quello di US EPA IRIS, che ha prodotto la serie di TEF maggiormente riconosciuta e utilizzata.

L'Ufficio per la Valutazione del Rischio Ambientale e Sanitario (OEHHA), facente parte della US EPA, ha quindi elaborato su questa linea dei fattori di conversione invece denominati PEF, che indicano potenza (cancerogena) equivalente invece che tossicità equivalente. Questo perché l'intenzione dichiarata è quella di adottare fattori funzionali alla valutazione della sola potenza cancerogena, e quindi il criterio di scelta e elaborazione dei dati è stato così finalizzato (OEHHA, 2005).

Di fatto, malgrado l'acronimo usato da Nisbet e LaGoy e dalla US EPA sia differente, anche questi sono fattori che riconducono alla cancerogenicità dei composti, piuttosto che ad un effetto complessivo tossico/cancerogeno. Tutte e tre le classificazioni indicano il BaP come composto di riferimento.

Le scale di fattori sono differenti, come già visto. Nisbet e LaGoy attribuiscono valori non nulli a tutti gli IPA prioritari, mentre molti di questi IPA sono indicati come trascurabili dalla US EPA e OEHHA. Va comunque detto che dove i due uffici assegnano fattori nulli, Nisbet e LaGoy si limitano ad assegnare valori di centesimi o millesimi, contro quello unitario del BaP.

La più evidente incongruenza fra le diverse serie riguarda il Dibenzo[a,h]antracene (DbahA), il più pesante degli IPA prioritari, dotato di due regioni baia. Nisbet e LaGoy gli assegnano un valore di 5, superiore a quello del BaP, US EPA invece un valore pari a quello del BaP, che comunque lo classifica come uno dei cancerogeni maggiori. Invece il OEHHA gli assegna un valore nullo.

Queste discrepanze sono ovviamente attribuibili ai differenti criteri con cui vengono valutati ed elaborati i dati disponibili. La cancerogenicità degli IPA è un tema su cui si dispone di una letteratura molto limitata ed eterogenea rispetto a quelle che sarebbero le necessità effettive. Dati sull'esposizione cronica in esseri umani scarseggiano e l'unico composto su cui si è potuta fare una completa valutazione di rischio è il Benzo[a]pirene. Per il resto si dispone di dati elaborati da test su animali da laboratorio oppure su esseri umani ma per una sola via di esposizione, oppure da test di genotossicità *in vitro*. Vengono quindi poste gerarchie di importanza per i diversi studi, il che implica una certa arbitrarietà da parte degli operatori stessi. Per cui, ad esempio, una massiccia risposta positiva ai test di tossicità può essere considerata più o meno rilevante rispetto ad una risposta incerta delle incidenze di tumori sull'esposizione umana per via respiratoria (OEHHA, 2005).

Nello specifico, Nisbet e LaGoy hanno elaborato tale fattore per il DbahA da dati sulla somministrazione cutanea su topi. OEHHA, pur non attribuendogli un PEF, non lo trascura, poiché definisce per tale composto un fattore di potenza cancerogena basato sulla probabilità di causare tumori per unità di esposizione $(\text{mg}/\text{kg}\cdot\text{day})^{-1}$ doppio rispetto a quello del BaP. Fra i dati che OEHHA aveva considerato riguardo al BaP, l'unico dataset disponibile riguardava dati sull'esposizione da ingestione di acqua, sufficiente per estrapolare fattori di rischio sull'inalazione, ma ritenuto troppo limitato per l'elaborazione di un PEF (Collins, 1998).

Nella Tabella 10.5 si espongono i dati sulla Tossicità Equivalente (TEQ) ottenuta da queste

tre differenti serie di fattori di conversione.

Tabella 10.5: Concentrazioni complessive di BaP e Σ IPA per i 12 campioni convertite in BaP-eq secondo le tre serie di fattori di tossicità-cancerogenicità.

IPA	TEF US EPA (ng/g BaP eq d.w.)		PEF OEHA (ng/g BaP eq d.w.)		TEF Nisbet e LaGoy, 1992 (ng/g BaP eq d.w.)	
	BaP	Σ IPA	BaP	Σ IPA	BaP	Σ IPA
AR 1	764	1106	764	1029	764	1922
AR 2	1023	1529	1023	1379	1023	2756
AR 3	654	989	654	895	654	1800
AR 4	972	1366	972	1297	972	2204
AR 5	617	912	617	844	617	1574
AR 7	363	465	363	509	363	548
AR 8	417	630	417	598	417	1102
AR 9	562	770	562	726	562	1229
AR 10	41343	56178	41343	54401	41343	88907
AR 11	339	414	339	447	339	475
AR 12	449	689	449	606	449	1305
AR 13	228	337	228	322	228	572
Media zona trattata	671	971	671	910	671	1642
Media zona non trattata	10590	14405	10590	13944	10590	22815

Anche dopo questa conversione il valore di AR10 è nettamente superiore rispetto agli altri. Inoltre il contributo del BaP è determinante. Di seguito vengono riportati i Grafici a colonna (Grafico 10.11, 10.12, 10.13). Per poter stimare visivamente anche gli altri campioni, che in una normale visualizzazione sarebbero sembrati tutti irrisori rispetto ad AR10, si è adottata la scala logaritmica. Per le scale lineari si rimanda all'Allegato (Grafici 12.1, 12.2, 12.3, 12.4, 12.5, 12.6)

Grafico 10.11: TEQ US EPA, Scala Logaritmica

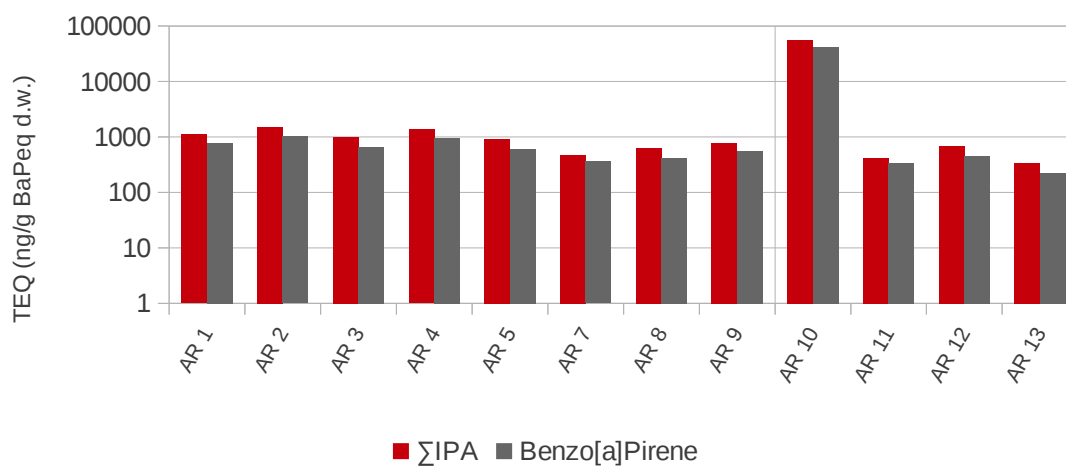


Grafico 10.12: PEQ OEHHA, Scala Logaritmica

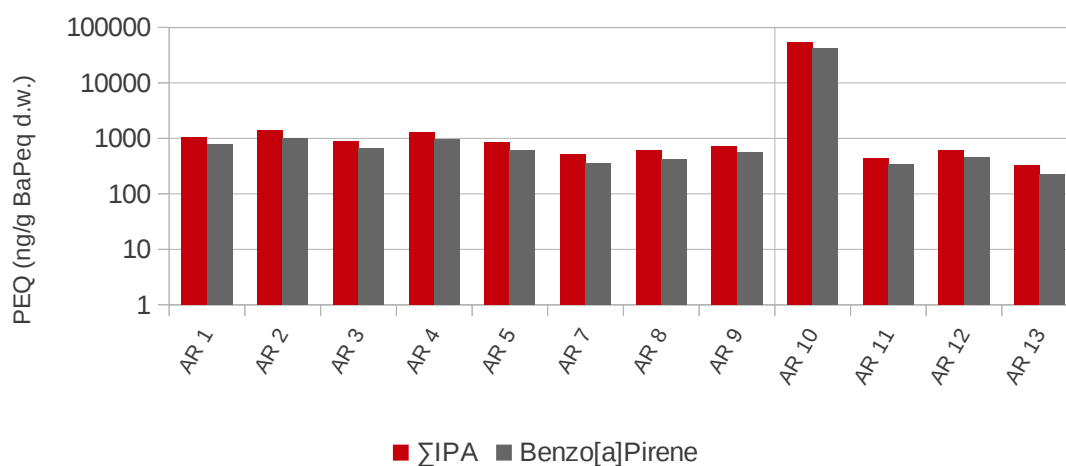
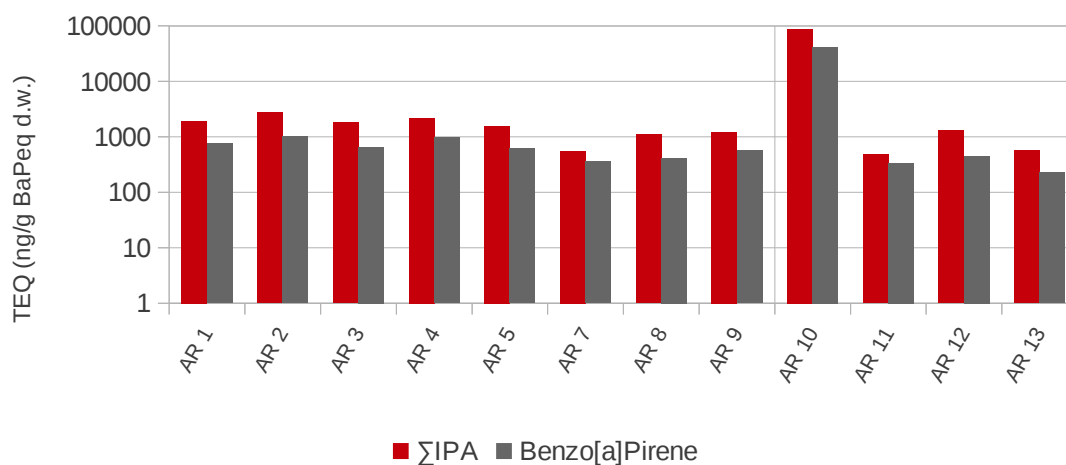


Grafico 10.13: TEQ Nisbet e LaGoy, 1992, Scala Logaritmica



Per un più rappresentativo confronto fra le diverse scale e le due zone, i dati vengono quindi elaborati come medie delle tossicità equivalenti per ciascun IPA, e loro sommatorie, nella zona trattata e non trattata.

Tabella 10.6: medie delle concentrazioni della zona trattata e non trattata convertite in BaP-equivalenti secondo le tre serie di fattori di tossicità-cancerogenicità.							
IPA		TEF US EPA (ng/g BaP eq d.w.)		PEF OEHHA (ng/g BaP eq d.w.)		TEF Nisbet e LaGoy, 1992 (ng/g BaP eq d.w.)	
		Media zona trattata	Media zona non trattata	Media zona trattata	Media zona non trattata	Media zona trattata	Media zona non trattata
IPA leggeri	Naph	0	0	0	0	0	2
	Ace	0	0	0	0	0	2
	Acy	0	0	0	0	0	7
	Fl	0	0	0	0	0	7
	Phe	0	0	0	0	7	53
	Ant	0	0	0	0	3	9
IPA pesanti IPA leggeri	Fluo	0	0	0	0	2	10
	Pyr	0	0	0	0	2	8
	BaA	62	925	62	925	62	925
	Chry	0	7	5	70	48	695
	BaP	671	10590	671	10590	671	10590
	BbF	51	604	51	604	51	604
	BkF	8	123	77	1227	77	1227
	BghiP	0	0	0	0	1	9
	IndP	43	528	43	528	43	528
	DbahA	135	1628	0	0	673	8139
Sommatorie	Σ IPA	971	14405	910	13944	1642	22815
	Σ IPA leggeri	0	0	0	0	11	79
	Σ IPA pesanti	971	14405	910	13944	1631	22735

I valori di concentrazione risultano quindi fortemente ridimensionati per quanto riguarda la loro importanza ambientale, soprattutto gli IPA leggeri che ottengono valori complessivi risibili oppure nulli. Il composto dalla maggiore tossicità equivalente risulta essere, in tutte e tre le serie, il BaP, dati sia i suoi elevati fattori di equivalenza (tutti e tre unitari) che le elevate concentrazioni nelle matrici.

La serie OEHHA, data l'assenza di un fattore per il DbahA risulta essere meno severa, assegnando una tossicità equivalente lievemente inferiore a quella della US EPA. Invece la serie di Nisbet e LaGoy, soprattutto grazie ai fattori del Chry e DbahA, assegna tossicità equivalente molto più elevate, più del 60%.

I grafici 10.14, 10.15, 10.16 rendono evidente come il BaP da solo contribuisca a più della metà della tossicità equivalente in tutti e tre i metodi.

Di seguito vengono esposti diagrammi a torta (Grafico 10.17, 10.18, 10.19, 10.20, 10.21, 10.22) che invece riportano il contributo percentuale di ogni IPA alla tossicità equivalente. L'apporto del BaP è anche in questa interpretazione, visibilmente maggioritario.

Grafico 10.14: TEQ media zona trattata, scala logaritmica

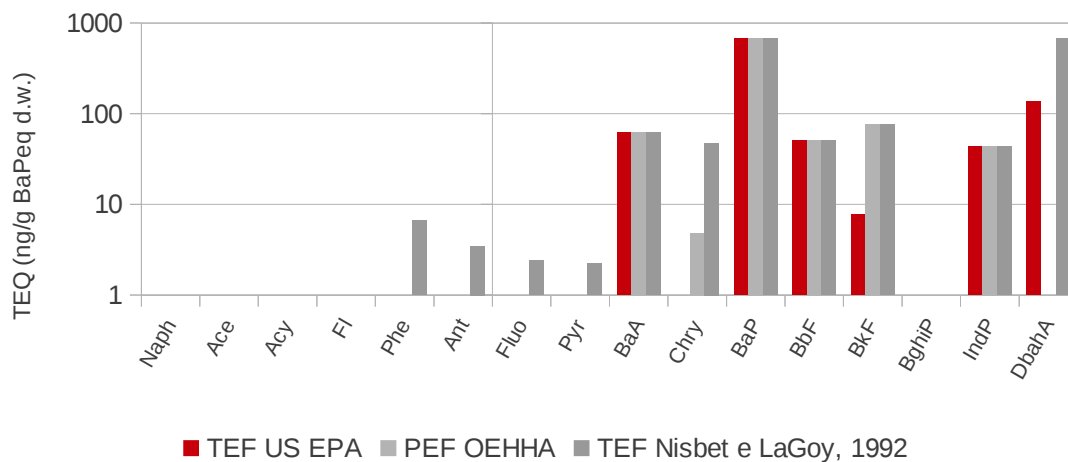


Grafico 10.15: TEQ media zona NON trattata, scala logaritmica

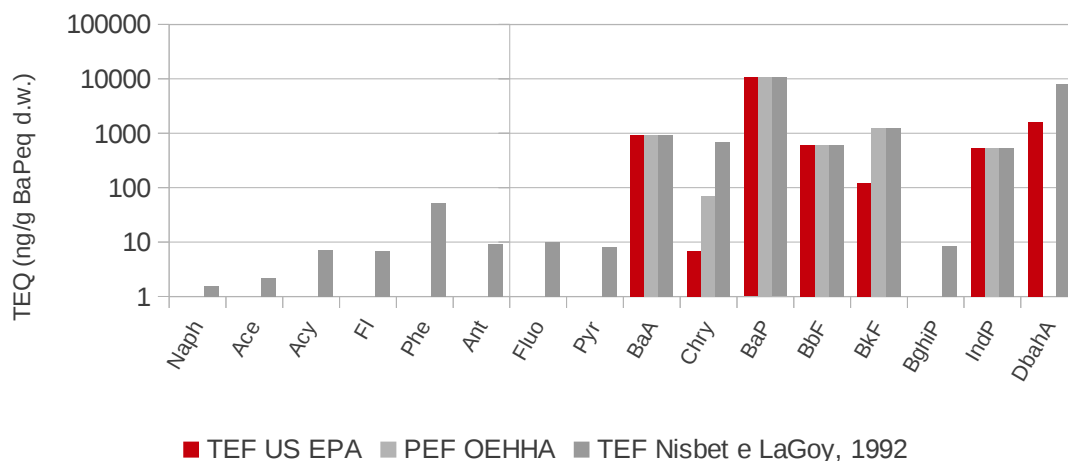
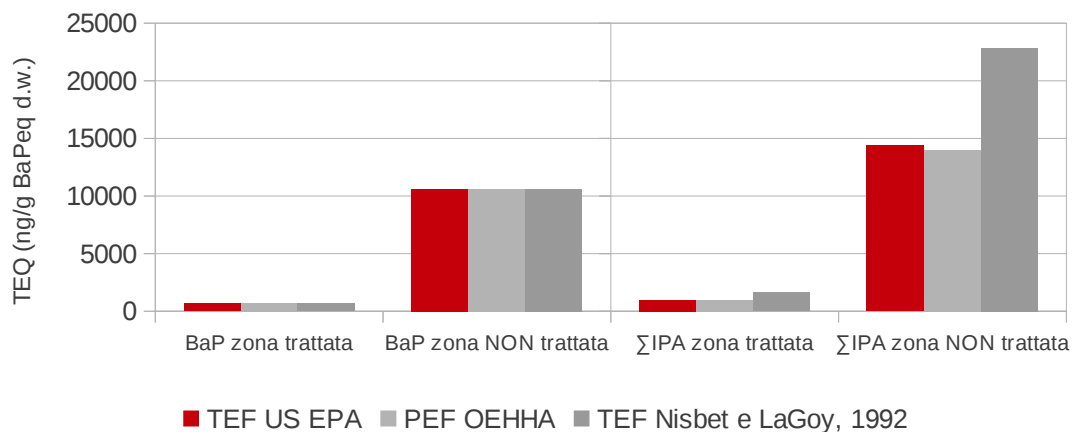
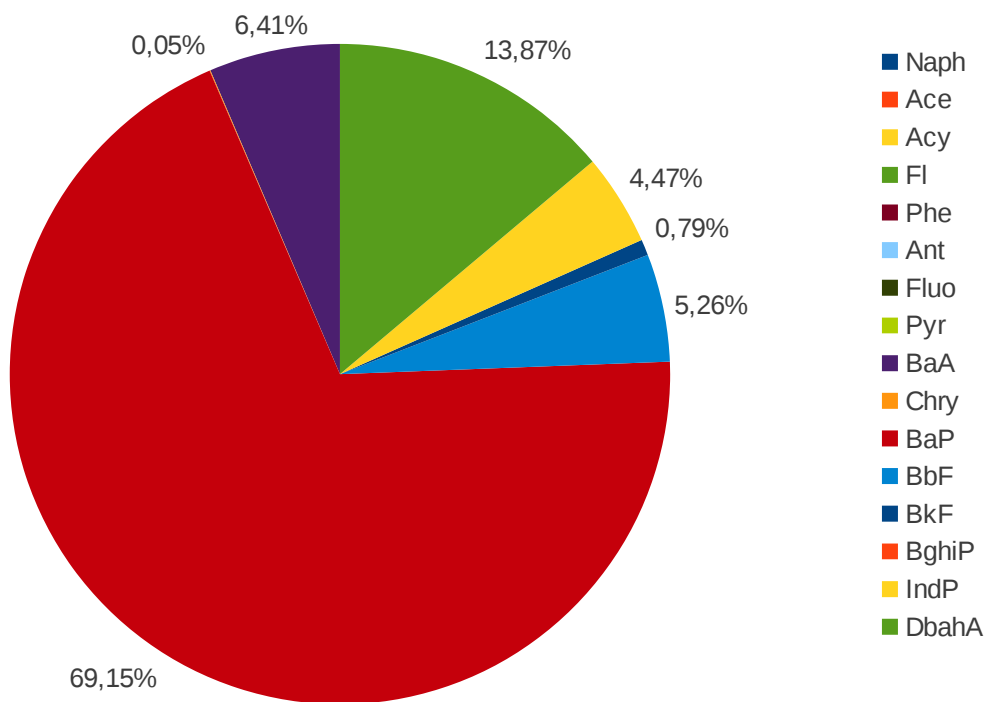


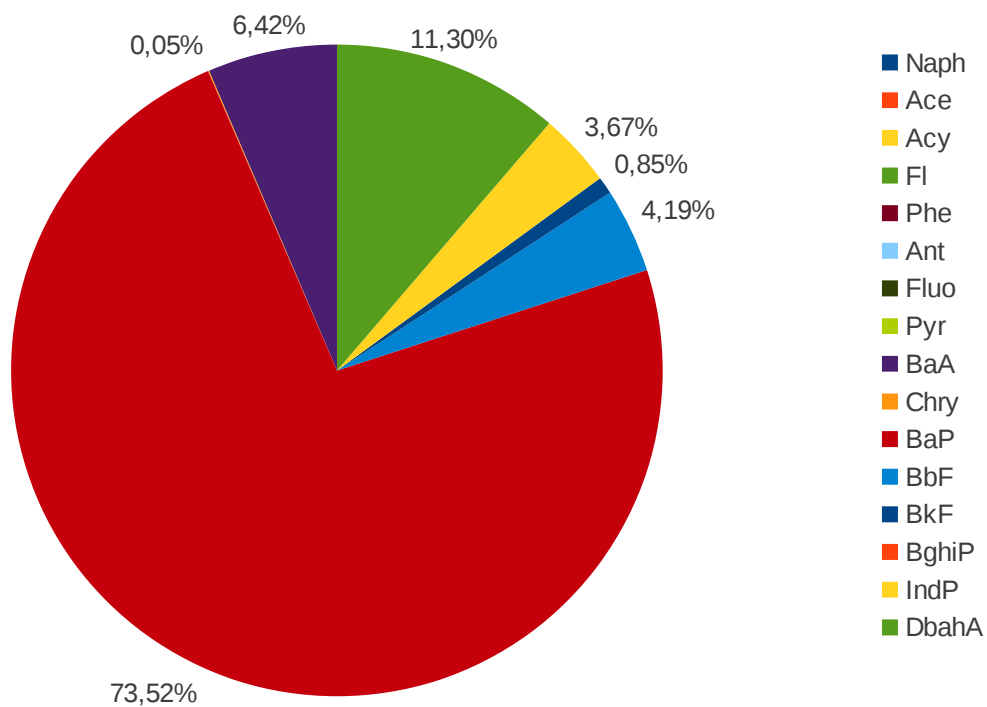
Grafico 10.16: TEQ medie zona trattata e NON trattata, scala logaritmica



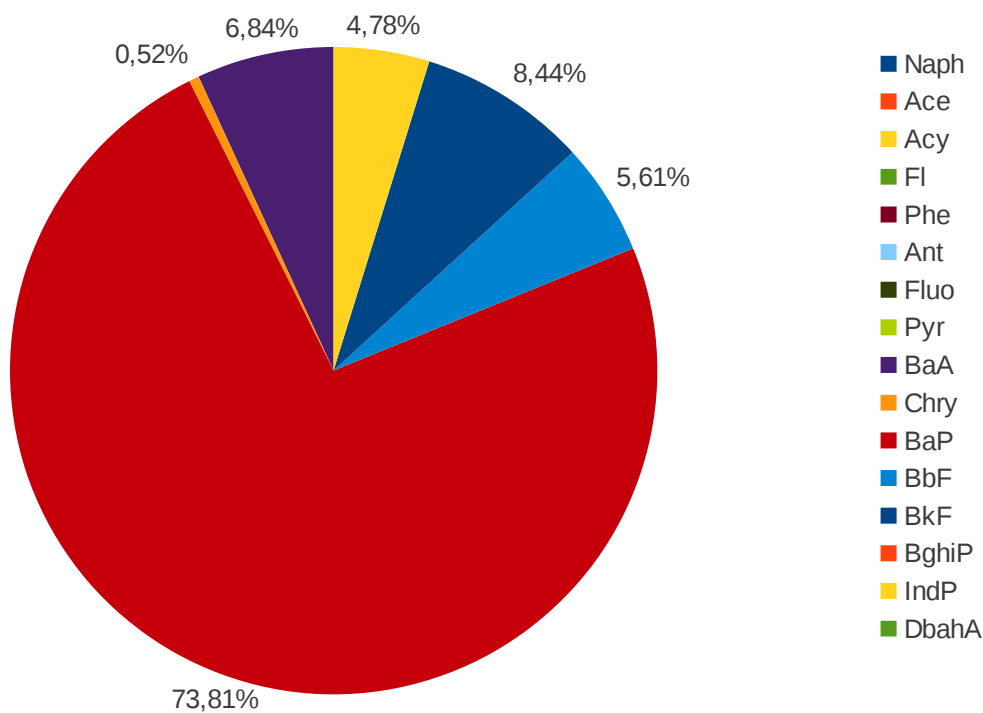
**Grafico 10.17: Apporti dei singoli IPA alla TEQ US EPA
Zona Trattata**



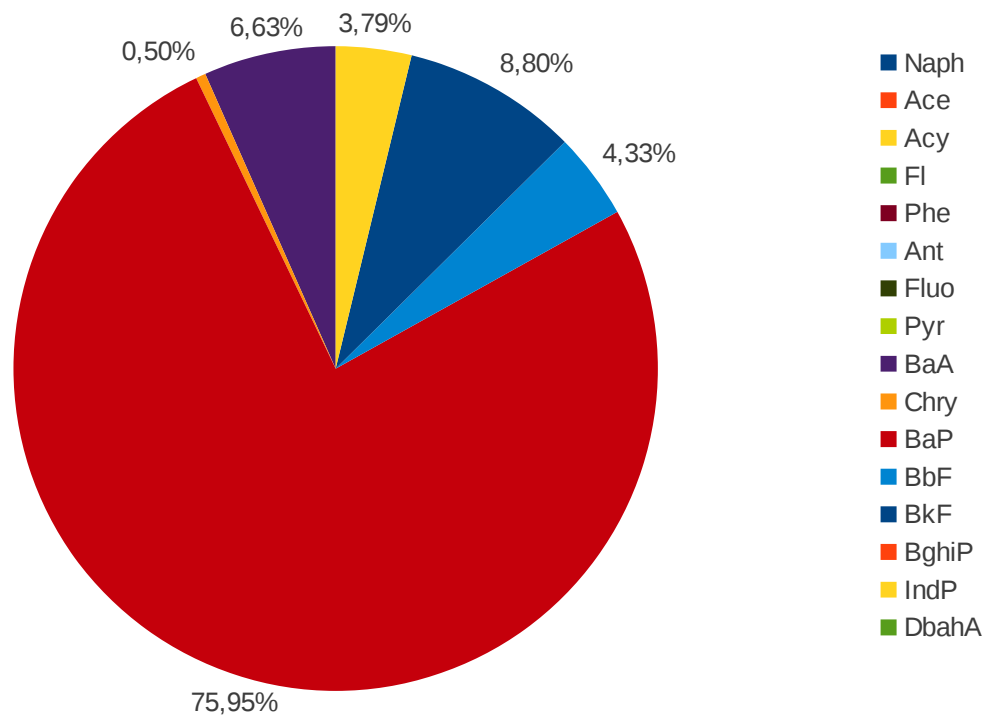
**Grafico 10.18: Apporti dei singoli IPA alla TEQ US EPA
Zona NON Trattata**



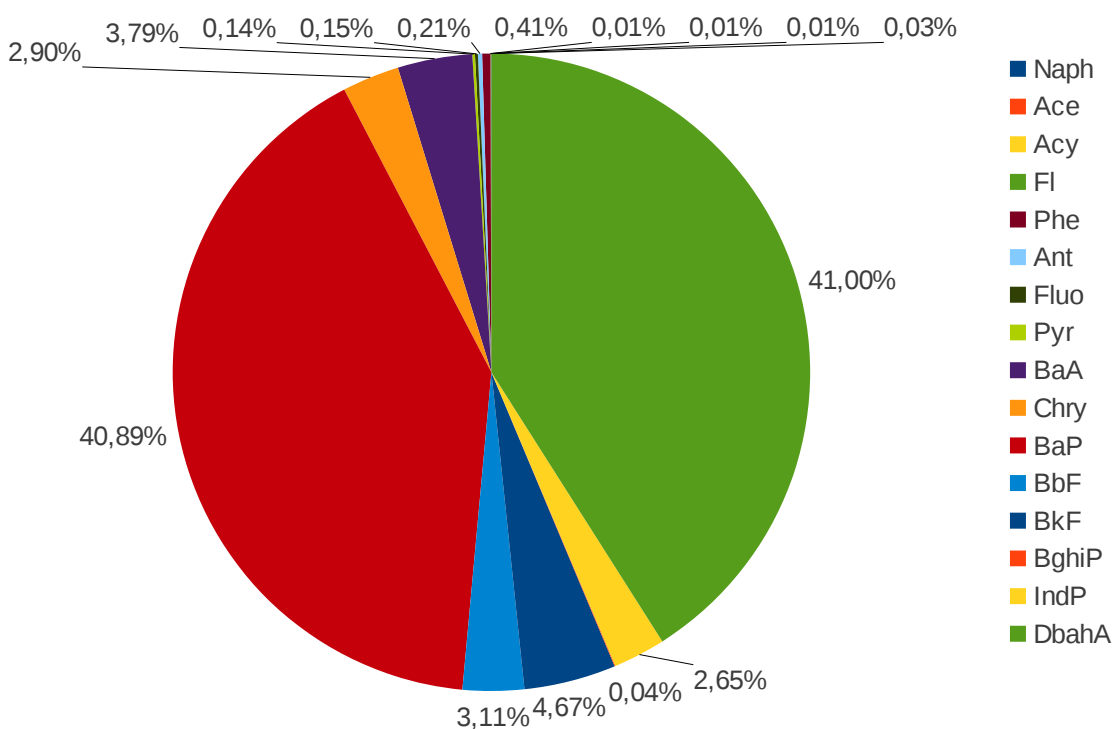
**Grafico 10.19: Apporti dei singoli IPA alla PEQ OEHHA
Zona Trattata**



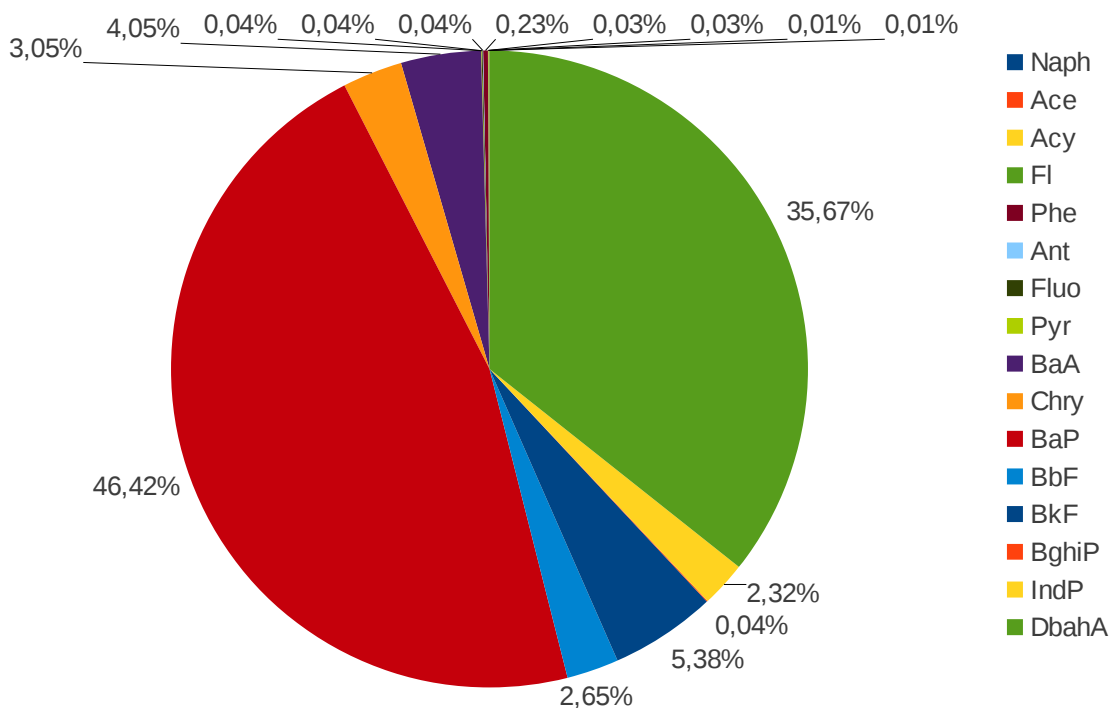
**Grafico 10.20: Apporti dei singoli IPA alla PEQ OEHHA
Zona NON Trattata**



**Grafico 10.21: Apporti dei singoli IPA alla TEQ Nisbet e LaGoy, 1992
Zona Trattata**



**Grafico 10.22: Apporti dei singoli IPA alla TEQ Nisbet e LaGoy, 1992
Zona NON Trattata**

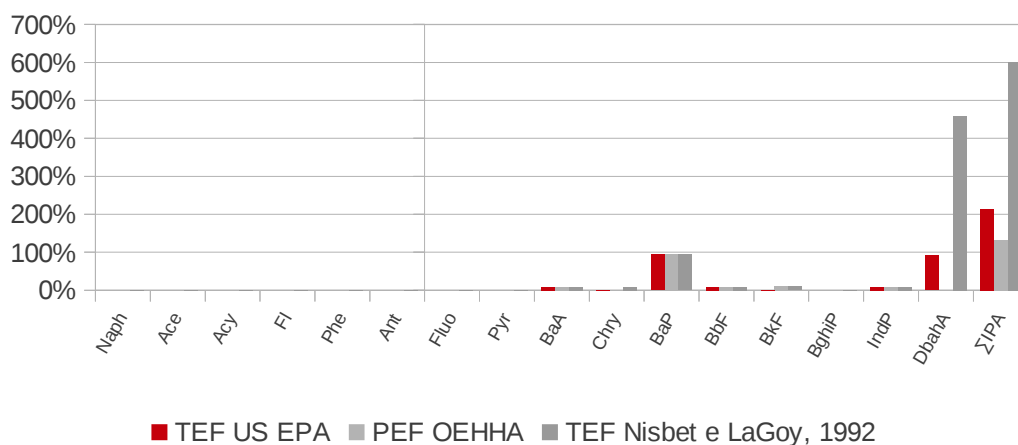


Secondo tali criteri quindi, la rilevanza di questo intervento si incentra nell'abbattimento degli IPA riconosciuti come maggiormente pericolosi dai tre sistemi di conversione. Malgrado Pyr e Fluo siano maggioritari in termini di concentrazione nella zona non trattata, il loro contributo risulta nullo nelle serie US EPA e OEHHA, rilevante ma inferiore a quello del BaP nella serie di Nisbet e LaGoy.

Nella Tabella 10.7 e Grafico 10.23 si stima quindi quale sia la differenza in termini di tossicità equivalente fra le due zone, in tutte e tre le scale poste a confronto.

Tabella 10.7: differenze delle concentrazioni della zona trattata e non trattata convertite in BaP-equivalenti secondo le tre serie di fattori di tossicità-cancerogenicità.

IPA	Differenza Concentrazione		Differenza TEF US EPA		Differenza PEF OEHHA		Differenza TEF Nisbet e LaGoy, 1992		
	(ng/g d.w.)	(%)	(ng/g BaP eq d.w.)	(%)	(ng/g BaP eq d.w.)	(%)	(ng/g BaP eq d.w.)	(%)	
IPA leggeri	Naph	1102.61	72%	0	—	0	—	1	—
	Ace	2015.02	93%	0	—	0	—	2	—
	Acy	7033.18	98%	0	—	0	—	7	—
	Fl	6685.89	97%	0	—	0	—	7	—
	Phe	4586.38	87%	0	—	0	—	46	1%
	Ant	558.54	62%	0	—	0	—	6	1%
IPA pesanti IPA leggeri	Fluo	7505.23	75%	0	—	0	—	8	—
	Pyr	5880.81	73%	0	—	0	—	6	—
	BaA	8628.80	93%	863	9%	863	9%	863	9%
	Chry	6477.14	93%	6	—	65	1%	648	9%
	BaP	9918.50	94%	9919	94%	9919	94%	9919	94%
	BbF	5528.10	92%	553	9%	553	9%	553	9%
	BkF	11506.56	94%	115	1%	1151	9%	1151	9%
	BghiP	7985.64	93%	0	—	0	—	8	—
	IndP	4848.58	92%	485	9%	485	9%	485	9%
DbahA	1493.16	92%	1493	92%	0	—	7466	459%	
Sommatore	∑IPA	91754.16	89%	13434	214%	13034	132%	21173	601%
	∑IPA leggeri	21981.63	92%	0	—	0	—	68	2%
	∑IPA pesanti	69772.53	89%	13434	214%	13034	132%	21105	599%

Grafico 10.23: Differenze fra TEQ (%) di zona trattata e NON trattata

Come si può notare la variazione assegnata al BaP non cambia per le tre serie, essendo il suo fattore sempre unitario. Ciò che determina le vere diversità è il DbahA.

La serie di Nisbet e LaGoy, sebbene abbia offerto i valori di tossicità equivalenti più elevati in entrambe le zone e possa quindi risultare la più severa, è anche quella che segnala la più elevata differenza fra le due zone, quindi quella che attribuisce all'intervento la maggiore efficacia.

10.2.2 Stima dell'efficacia dell'intervento

Come già visto, la zona trattata registra livelli di contaminazione di molto inferiori a quelli della zona non trattata, e questa presenza può essere con ogni probabilità addotta agli effetti dell'intervento di BIO₂REMEDIAZIONE®. In questa sezione si intende discutere della possibilità che questa differenza non sia adducibile esclusivamente all'intervento in sé, ma a anche alla sua efficacia protratta nel tempo.

Ovvero, se l'ecosistema che si era formato al termine dell'intervento è stato in grado di mantenersi e detossificarsi autonomamente, abbattendo i livelli di contaminanti in ingresso. Ciò collocherebbe la BIO₂REMEDIAZIONE® come il primo degli interventi di biorimediazione la cui efficacia persiste nel tempo, e quindi in grado di risparmiare futuri interventi di bonifica.

Questa valutazione deve essere quindi fatta ponendo un confronto fra le media delle due zone (trattata e non trattata) e due ipotetiche serie di concentrazioni che rappresentino lo stato dei sedimenti del bacino dell'Arsenale Vecchio dopo dell'intervento e prima dell'intervento. Queste due serie di concentrazioni sono state ricavate dalle medie delle concentrazioni della carota C, l'unica considerata con dati rappresentativi nelle analisi fatte all'epoca dell'intervento.

Le medie delle concentrazioni per ogni IPA lungo tutta la carota C estratta prima dell'intervento (denominata allora carota C2) vengono quindi confrontate con le concentrazioni medie dell'area non trattata; le concentrazioni medie della carota C dopo l'intervento (carota C4) vengono confrontate con quelle dell'area trattata.

Dalla loro differenza, normalizzata alle concentrazioni di partenza, ovvero quelle della carota, vengono quindi elaborate delle variazioni di concentrazione (ΔC). Questi valori sono positivi ed indicano tutte variazioni in positivo dei livelli di contaminanti, essendo essi

tutti aumentati rispetto all'epoca dell'intervento.

Nell'eventualità che le ΔC della zona trattata fossero complessivamente uguali rispetto a quelle della zona non trattata, ciò significherebbe che l'intervento ha avuto un'efficacia puntuale, limitata ai contaminanti abbattuti nel corso dell'operazione, e che quindi la comunità microbica formatasi è stata inattivata in breve tempo. Se le ΔC fossero inferiori rispetto a quelle della zona non trattata ciò sarebbe indice di qualche effetto rebound, per cui la BIO₂REMEDIAZIONE® si rivelerebbe inutile o dannosa nel lungo periodo. Invece, per ΔC maggiori rispetto a quelle della zona non trattata, si avrebbe quindi conferma che la comunità microbica è stata in grado di detossificarsi autonomamente.

Vediamo quindi le variazioni di concentrazione nella Tabella 10.8.

Tabella 10.8: Valori di concentrazione della carota C, della zona trattata e non trattata e elaborazione delle ΔC.							
IPA		BIO ₂ REMEDIAZIONE® (ng/g d.w.)		Campionamento estate 2010 (ng/g d.w.)		Variazioni (ΔC) (%)	
		C4 MEDIA IPA	C2 MEDIA IPA	Media zona trattata	Media zona non trattata	ΔC zona trattata (%)	ΔC zona NON trattata (%)
IPA leggeri	Naph	20.98	57.14	431.02	1533.63	1954%	2584%
	Ace	8.3225	10.744	158.76	2173.79	1808%	20133%
	Acy	7.865	9.958	169.81	7203.00	2059%	72234%
	Fl	12.5175	10.962	191.12	6877.01	1427%	62635%
	Phe	114.5	58.86	668.60	5254.99	484%	8828%
	Ant	25.95	27.296	348.79	907.34	1244%	3224%
IPA pesanti IPA leggeri	Fluo	331.78	466.222	2436.15	9941.38	634%	2032%
	Pyr	261.1675	268.55	2225.69	8106.49	752%	2919%
	BaA	107.155	176.704	622.15	9250.95	481%	5135%
	Chry	131.0325	1585.326	475.57	6952.71	263%	339%
	BaP	148.32	194.33	671.36	10589.86	353%	5349%
	BbF	100.9975	166.966	510.68	6038.77	406%	3517%
	BkF	69.66	186.754	767.24	12273.80	1001%	6472%
	BghiP	76.5	331.824	607.06	8592.70	694%	2490%
	IndP	81.2925	113.67	434.35	5282.94	434%	4548%
	DbahA	21.0275	34.03	134.63	1627.80	540%	4683%
Sommatorie	Σ IPA	1519.07	3699.34	10853	102607.16	614%	2674%
	Σ IPA leggeri	190.14	174.96	1968.12	23949.75	935%	13589%
	Σ IPA pesanti	1328.93	3524.38	8884.88	78657.41	569%	2132%

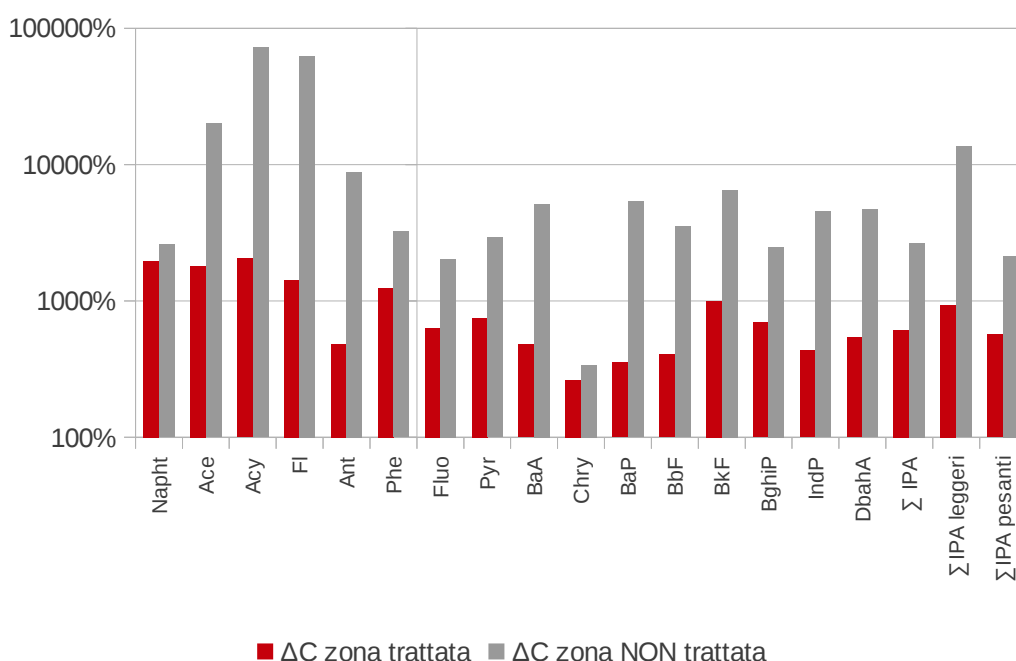
È immediato notare come tutti i ΔC siano positivi, ovvero le concentrazioni siano aumentate in entrambe le zone per tutti gli IPA, se vengono presi i valori della carota C come punto di partenza. Ciò significa che una serie di fattori ha determinato l'apporto di un'ingente dose di contaminanti in entrambi i bacini nei due anni successivi alla BIO₂REMEDIAZIONE®.

Per tutti i composti e le loro sommatorie la ΔC della zona non trattata è superiore a quella della zona trattata. Ovvero tutti i fattori che hanno comportato l'aumento delle concentrazioni in entrambe le zone sono stati meno incisivi per la zona trattata.

Ace, Acy e Fl sono i composti che hanno registrato il maggiore aumento percentuale nella zona non trattata. Parallelamente le loro differenze relative fra area trattata e non trattata sono le maggiori. In quanto IPA leggeri sono più suscettibili di volatilizzazione, dissoluzione, ossidazione chimica e biologica, pertanto sono composti che tenderanno più facilmente ad accumularsi in sedimenti dove la comunità microbica aerobica non è attiva, ovvero quelli della zona non trattata e carota C2.

Date le elevate ΔC di Acy e Fl il grafico successivo (Grafico 10.24) deve adottare la scala logaritmica per poter valutare visivamente anche le altre variazioni, si usa la scala logaritmica. Per i grafici corrispettivi che adottano scale lineari, si rimanda all'Allegato (Grafici 12.9, 12.10).

**Grafico 10.24: Variazioni delle concentrazioni rispetto all'epoca dell'intervento
Scala Logaritmica**



Quindi l'intervento di ossigenazione forzata dimostra la sua efficacia persistente nel tempo, avendo generato un ciclo virtuoso degradazione microbica degli IPA.

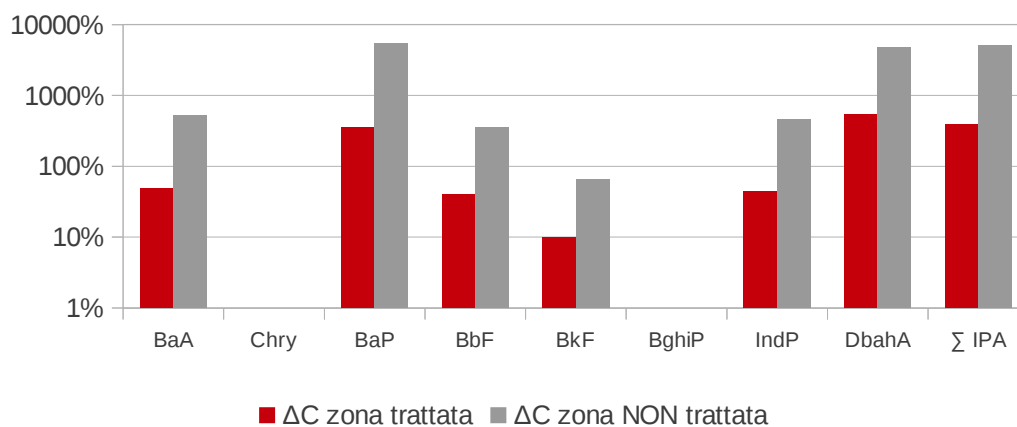
È di interesse valutare anche quale sia stata l'efficacia persistente nel tempo anche in termini di riduzione del rischio per l'ambiente e la salute umana, si passerà quindi alla conversione di queste ΔC secondo le tre già citate serie di tossicità equivalenti. La Tabella 10.9 elenca le variazioni (Δ) di ciascuna delle tossicità equivalenti in termini percentuali. Essendo le tossicità equivalenti degli IPA leggeri poco o per nulla rilevanti, viene riportata solo la sommatoria degli IPA totali.

Tabella 10.9: ΔC convertite in variazioni della tossicità equivalente secondo le tre serie.

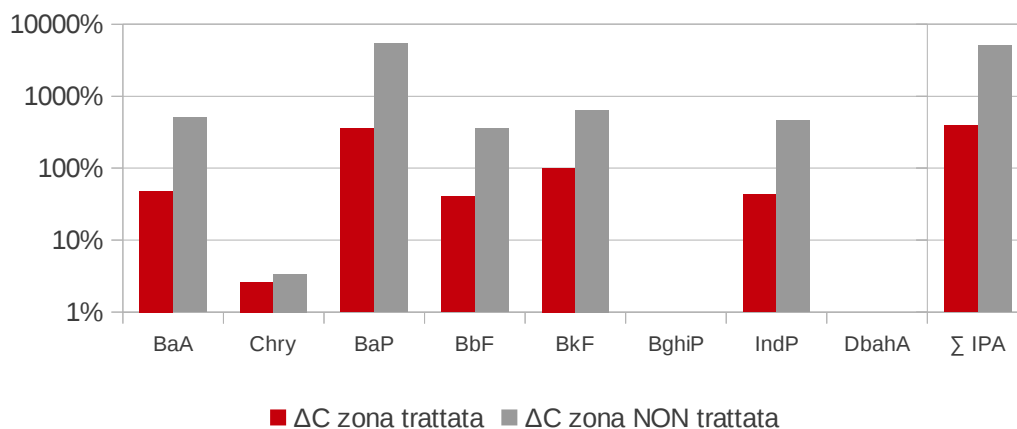
IPA	TEF US EPA		PEF OEHHA		TEF Nisbet e LaGoy, 1992		
	Δ zona trattata (%)	Δ zona NON trattata (%)	Δ zona trattata (%)	Δ zona NON trattata (%)	Δ zona trattata (%)	Δ zona NON trattata (%)	
IPA leggeri	Napht	—	—	—	2%	3%	
	Ace	—	—	—	2%	20%	
	Acy	—	—	—	2%	72%	
	Fl	—	—	—	1%	63%	
	Ant	—	—	—	5%	89%	
	Phe	—	—	—	12%	33%	
IPA pesanti IPA leggeri	Fluo	—	—	—	1%	2%	
	Pyr	—	—	—	1%	3%	
	BaA	48%	514%	48%	514%	48%	524%
	Chry	—	—	3%	3%	26%	44%
	BaP	353%	5349%	353%	5349%	353%	5349%
	BbF	41%	352%	41%	352%	41%	362%
	BkF	10%	65%	100%	647%	100%	657%
	BghiP	—	—	—	—	1%	3%
	IndP	43%	455%	43%	455%	43%	465%
	DbahA	540%	4683%	—	—	2701%	23917%
Σ IPA	388%	5090%	390%	4978%	439%	8094%	

Parallelamente a quanto già visto nel paragrafo precedente per le differenze di tossicità equivalente fra zona trattata e non trattata, la serie di Nisbet e LaGoy, seppure più severa nel quantificare la TEQ, è quella che assegna la maggiore differenza percentuale tra la variazione della zona trattata rispetto a quella non trattata. Così come, essendo la serie della OEHHA la più permissiva, essa segnala una minore differenza fra le variazioni delle due TEQ. I tre grafici successivi (Grafico 10.25, 10.26, 10.27) adottano la scala logaritmica, i massimi delle scale sono diversi per ogni Grafico. Per i primi due (Grafico 10.25, 10.26), i primi IPA, che contributo nullo, sono stati tagliati.

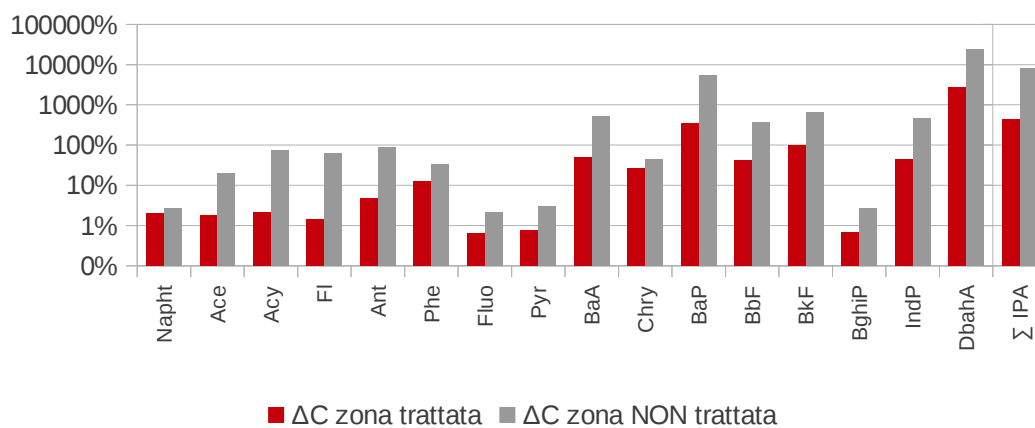
**Grafico 10.25: Variazioni della TEQ US EPA
Rispetto all'epoca dell'intervento, scala logaritmica**



**Grafico 10.26: Variazioni della PEF OEHHA
Rispetto all'epoca dell'intervento, scala logaritmica**



**Grafico 10.27: Variazioni della TEQ secondo Nisbet e LaGoy, 1992
Rispetto all'epoca dell'intervento, scala logaritmica**



10.2.3 Identificazione delle fonti mediante utilizzo di *fingerprints*

Come già detto nella parte introduttiva riguardante gli IPA, in presenza di miscele di questi composti in ambiente, è possibile risalire alla loro fonte (petrogenica o pirogenica, meno rilevante quella diagenetica) attraverso il calcolo di rapporti fra specifici composti o somme di essi. Le miscele petrogeniche generalmente contengono IPA più leggeri e alchilati, mentre quelle pirogeniche abbondano in IPA pesanti e non sostituiti. Solo gli asfalti contengono elevate percentuali di IPA pesanti (Readman et al., 1987). Quindi i rapporti identificativi, *fingerprints*, mettono a confronto le concentrazioni degli IPA leggeri con quelle di IPA pesanti. Questo approccio non è però sempre affidabile, in quanto si mettono a confronto composti con differenti solubilità, volatilità, tendenza ad assorbirsi sul particolato ecc.. Gli IPA leggeri, per fare un esempio, potrebbero essere assenti in una matrice solida perché già evaporati, rimossi dal flusso d'acqua oppure degradati. Per questo, data la loro maggiore reattività e solubilità, IPA leggeri dal naftalene e fluorene, vengono considerati poco affidabili per la realizzazione di *fingerprints* (Soclo et al., 2000).

Sotto questo profilo sono più affidabili i rapporti isomerici, *isomeric ratios*. Si tratta di *fingerprints*, che mettono a confronto le concentrazioni di due o più stereoisomeri, composti con identica formula bruta ma differente struttura spaziale. Generalmente di due isomeri uno viene definito termodinamicamente stabile, ovvero tende a formarsi in condizioni di bassa temperatura e in lunghi periodi, quindi nella petrogenesi o diagenesi; l'altro isomero è invece definito cineticamente stabile in quanto tende a formarsi ad elevate temperature, quindi durante combustioni. Maggiore è l'abbondanza dell'isomero cineticamente stabile rispetto a quello termodinamicamente stabile, maggiore è la predominanza della probabile fonte pirogenica, e viceversa. Trattandosi di sostanze con stesso peso molecolare e quindi proprietà simili, fattori di disturbo legati alla variabilità di fenomeni di evaporazione adsorbimento degradazione ecc. sono minimizzati.

L'utilità dei *fingerprints* è quella di identificare la tipologia di fonte, per poter risalire agli eventi che hanno causato la contaminazione e prendere eventualmente le idonee contromisure. Per l'elaborazione dei *fingerprints* possono essere usati anche IPA non appartenenti alla lista degli inquinanti prioritari US EPA, come perilene e benzo[e]pirene, qualora essi siano utili ai fini analitici (Soclo et al., 2000). All'interno di un'analisi sulle origini della contaminazione di un sito, vengono frequentemente usate come componenti principali all'interno della PCA, ovvero analisi delle componenti principali (Yunker et al., 2002; Fang et al., 2007).

Tabella 10.10: fingerprints non isomerici degli IPA da differenti fonti bibliografiche.

Rapporti non isomerici				
Masse	Rapporto	Valore	Origine	Fonte
	BaA/BaP	≈ 0.5	Pirolisi benzina	Zhang et al., 2004 e riferimenti all'interno
		≈ 1.1	Pirolisi diesel	
	Pyr/BaP	≈ 1.5	Scarichi automobili a benzina	Masclat et al., 1986
		2 – 6	Scarichi automobili	Yang et al, 1991
	LMW/HMW	< 1	Pirolisi	Zhang et al., 2004 e riferimenti all'interno
		> 1	Petrolio	

Tabella 10.11: fingerprints isomerici degli IPA da differenti fonti bibliografiche.				
Rapporti isomerici				
Masse	Rapporto	Valore	Origine	Fonte
178.1	Ant/Ant+Phe	< 0.1	Petrolio	Budzinski et al., 1997
		> 0.1	Comubustione	
	Phe/Ant	≈ 4	Scarichi automobili	Yang et al, 1991 e riferimenti all'interno
		> 50	Oli minerali	
		< 10	Pirogenesi	
202.1	Fluo/Fluo+Pyr	< 0.4	Petrolio	Budzinski et al., 1997
		0.4 – 0.5	Pirolisi petrolio	
		> 0.5	Pirolisi erba, legno carbone	
	Fluo/Pyr	> 1	Pirolisi	Zhang et al., 2004 e riferimenti all'interno
		< 1	Petrogenesi	
228.1	BaA/BaA+Chry	< 0.2	Petrolio	Yunker et al., 2002
		0.2 – 0.35	Sorgenti miste	
		> 0.35	Pirolisi	
	Chry/ BaA	0.2 – 0.50	Diagenesi	Soclo et al., 2000 e riferimenti all'interno
		< 1	Pirolisi	
276.1	IndP/IndP+BghiP	<0.2	Petrogenesi	Yunker et al., 2002
		0.2 – 0.5	Pirolisi petrolio	
		> 0.5	Pirolisi erba, legno, carbone	
	BghiP/IndP	≈ 3.5	Pirolisi benzina	Zhang et al., 2004 e riferimenti all'interno
		≈ 1.1	Pirolisi diesel	

Processi ad elevata temperatura come la combustione di materia organica generano IPA caratterizzati da un rapporto Phe/Ant inferiore a 10, invece la lenta maturazione della materia organica nella catagenesi porta a valori Phe/Ant superiori a 15. Le stesse considerazioni possono essere applicate al rapporto Fluo/Pyr. Valori superiori ad 1 indicano origini pirogeniche, mentre valori inferiori ad 1 origini petrogeniche. Per entrambi gli isomeri esiste comunque una incertezza per i valori intermedi, e si consiglia di usare entrambi gli indici per ottenere una buona stima (Budzinski et al., 1997 e riferimenti all'interno).

I rapporti Fluo/Pyr e IndP/(Ind+BghiP) sono considerati più affidabili in quanto si tratta di isomeri che fotodegradano a velocità simili (Yunker et al., 2002 e riferimenti all'interno). Va inoltre considerata la differenza nelle energie di formazione. Gli isomeri pirogenici hanno ovviamente energie di formazione più elevate rispetto a quelli petrogenici. In alcuni casi però le energie di formazione di due isomeri non sono molto differenti e quindi la coppia isomerica da sola non può fornire una chiara identificazione della tipologia di processo che ha generato la miscela di IPA. Le coppie associate alle masse 178.1 (Phe/Ant) e 228.1 (BaA/Chry) presentano composti con energia di formazione molto simili, quindi la

risposta fornita da queste due coppie non è molto precisa. Le coppie invece associate alle masse 202.1 (Fluo/Pyr) e 276.1 (BghiP/IndP) invece presentano isomeri con energie di formazione molto differenti e forniscono risposte analitiche più precise (Yunker et al., 2002).

Alcuni autori (Yunker et al., 2002; Fang et al. 2007) hanno inoltre utilizzato diagrammi di dispersione in cui le coordinate sono rappresentate da due *fingerprints* e i punti dai dati analitici relativi alle aliquote, per ottenere una comprensione visiva immediata di quale possa essere l'origine della contaminazione secondo l'uso incrociato di due indici. Inoltre questi autori consigliano l'utilizzo di questi grafici (*cross plots*) quando l'utilizzo di molti indici può causare incoerenza dei risultati e difficoltà di interpretazione.

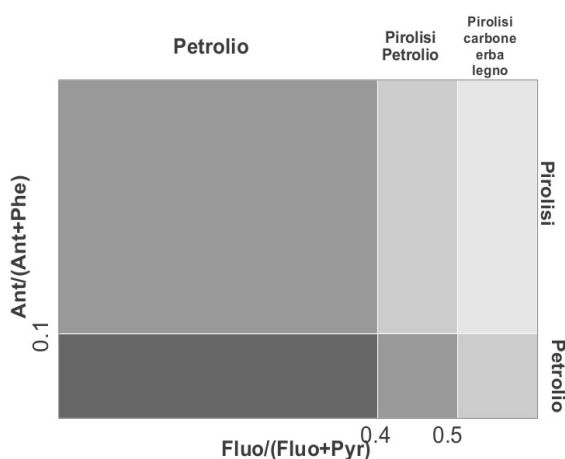


Immagine 10.1: Utilizzo degli indici incrociati $Fluo/(Fluo+Pyr)$ e $Ant/(Ant+Phe)$ con suddivisione delle zone.

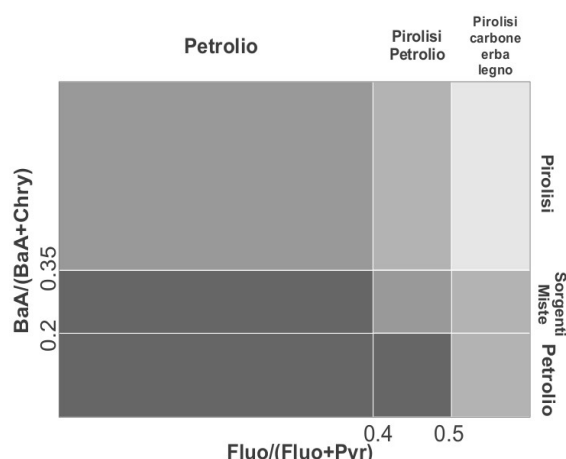


Immagine 10.2: Utilizzo degli indici incrociati $Fluo/(Fluo+Pyr)$ e $BaA/(BaA+Chry)$ con suddivisione delle zone.

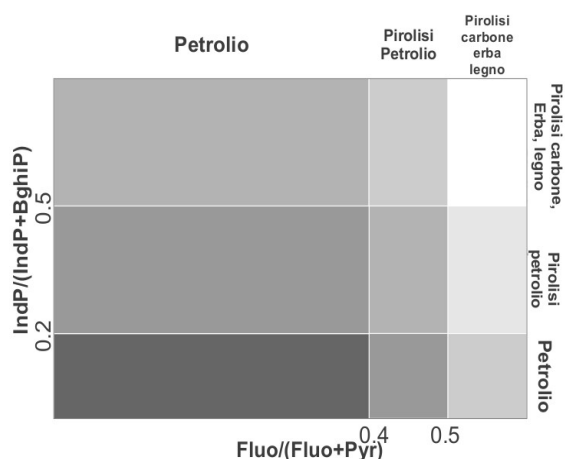


Immagine 10.3: Utilizzo degli indici incrociati $Fluo/(Fluo+Pyr)$ e $IndP/(IndP+BghiP)$ con suddivisione delle zone.

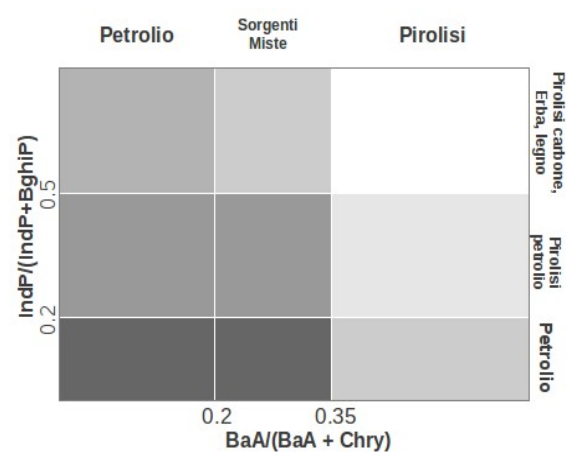


Immagine 10.4: Utilizzo degli indici incrociati $BaA/(BaA+Chry)$ e $IndP/(IndP+BghiP)$ con suddivisione delle zone.

Fonti: Yunker et al., 2002; Fang et al. 2007

Il rapporto (non isomerico) $BaP/\sum IPA$ è considerato come netto indicatore di origine pirogenica, in quanto la sua concentrazione nel petrolio è solitamente trascurabile. Miscele di origine pirolitica in cui viene messa a confronto per diverse aliquote la concentrazione del BaP contro la sommatoria degli IPA hanno coefficienti r^2 molto vicini ad 1 (Magi et al. 2001 e riferimenti all'interno). Il rapporto $Per/\sum IPA$ è invece usato per indicare la fonte

diagenetica, anche se in alcuni casi gli r^2 forniti sono molto bassi (Soclo et al., 2000; Yunker et al. 2002).

Nella Tabella 10.11 sono elencati i *fingerprints* calcolati per ciascuno dei punti di campionamento.

		Fingerprints											
		Zona trattata								Zona non Trattata			
Masse	Rapporto	AR 1	AR 2	AR 3	AR 4	AR 5	AR 7	AR 8	AR 9	AR 10	AR 11	AR 12	AR 13
	BaA/BaP	0.74	0.81	0.74	0.99	0.82	0.76	0.69	0.89	0.75	0.88	0.66	0.89
	Pyr/BaP	3.27	2.83	2.39	3.44	3.48	2.30	2.33	2.57	0.61	2.64	2.12	3.40
	LMW/HMW	0.18	0.19	0.20	0.21	0.29	0.37	0.19	0.23	0.31	0.33	0.21	0.28
178.1	Ant/Ant+Phe	0.25	0.35	0.35	0.39	0.43	0.30	0.31	0.37	0.13	0.54	0.47	0.34
	Phe/Ant	3.06	1.86	1.83	1.59	1.31	2.34	2.18	1.67	6.83	0.87	1.15	1.95
202.1	Fluo/Fluo+Pyr	0.54	0.51	0.53	0.51	0.50	0.54	0.53	0.53	0.55	0.54	0.46	0.53
	Fluo/Pyr	1.16	1.05	1.15	1.06	1.01	1.15	1.12	1.12	1.25	1.15	0.86	1.13
228.1	BaA/BaA+Chry	0.57	0.57	0.58	0.60	0.58	0.54	0.54	0.50	0.57	0.59	0.57	0.55
	Chry/ BaA	0.76	0.74	0.72	0.67	0.71	0.86	0.87	0.98	0.75	0.69	0.76	0.82
276.1	IndP/IndP+BghiP	0.39	0.41	0.40	0.41	0.42	0.46	0.49	0.41	0.38	0.38	0.39	0.40
	BghiP/IndP	1.60	1.47	1.49	1.42	1.38	1.17	1.05	1.42	1.63	1.62	1.55	1.48

Per semplificare la comprensione visiva dei risultati, nella Tabella 10.12 sono indicate le fonti a cui riconducono i valori ottenuti secondo i range forniti dai diversi autori.

		Fingerprints											
		Zona trattata								Zona non Trattata			
Masse	Rapporto	AR 1	AR 2	AR 3	AR 4	AR 5	AR 7	AR 8	AR 9	AR 10	AR 11	AR 12	AR 13
	BaA/BaP	PB	PD	PB	PD	PD	PB	PB	PD	PB	PD	PB	PD
	Pyr/BaP	SAB	SAB	SAB	SAB	SAB	SAB	SAB	SAB	–	SAB	SAB	SAB
	LMW/HMW	Pi	Pi	Pi	Pi	Pi	Pi	Pi	Pi	Pi	Pi	Pi	Pi
178.1	Ant/(Ant+Phe)	Pi	Pi	Pi	Pi	Pi	Pi	Pi	Pi	Pi	Pi	Pi	Pi
	Phe/Ant	Pi	Pi	Pi	Pi	Pi	Pi	Pi	Pi	Pi	Pi	Pi	Pi
202.1	Fluo/(Fluo+Pyr)	PC	PC	PC	PC	PC	PC	PC	PC	PC	PC	PP	PC
	Fluo/Pyr	Pi	Pi	Pi	Pi	Pi	Pi	Pi	Pi	Pi	Pi	POC	Pi
228.1	BaA/(BaA+Chry)	Pi	Pi	Pi	Pi	Pi	Pi	Pi	Pi	Pi	Pi	Pi	Pi
	Chry/ BaA	Pi	Pi	Pi	Pi	Pi	Pi	Pi	Pi	Pi	Pi	Pi	Pi
276.1	IndP/(IndP+BghiP)	PP	PP	PP	PP	PP	PP	PP	PP	PP	PP	PP	PP
	BghiP/IndP	PD	PD	PD	PD	PD	PD	PD	PD	PD	PD	PD	PD

Legenda: **PB:** pirolisi da motori a benzina; **PD:** pirolisi da motori diesel; **SAB:** scarichi di automobili a benzina; **Pi:** pirolisi; **PC:** pirolisi da carbone, legno erba; **PP:** pirolisi da petrolio; **POC:** pirolisi da olio combustibile.

Gli indici forniscono quindi una interpretazione univoca riguardo alla tipologia di processo che ha generato gli IPA presenti nel sedimento: fonte pirolitica. Il sedimento è

stato contaminato attraverso la deposizione di particolato atmosferico, sulla cui superficie erano adsorbiti IPA scaturiti da processi di combustione incompleta, attraverso la colonna d'acqua.

Su quale sia nello specifico il processo di combustione che ha generato tali composti, invece emergono incoerenze fra gli indici. Il BaA/BaP alterna fra combustione da motori diesel e combustione a motori benzina nei diversi punti. Va comunque segnalato che i rapporti non isomerici sono meno affidabili in quanto rapportano sostanze con differenti proprietà legate alla volatilizzazione, adsorbimento, degradazione chimica e biologica. Il Fluo/(Fluo+Pyr), che è un rapporto isomerico, invece fornisce valori compatibili con la combustione di carbone, erba e legno, quindi riconducibili a stabilimenti industriali o riscaldamento domestico. La legge impedisce l'utilizzo del riscaldamento a legna a Venezia, ma non prevede restrizioni per l'utilizzo di stufe a pellet. Va inoltre segnalato che vicino a Venezia è presente la centrale termoelettrica a carbone Andrea Palladio. L'indice IndP/(IndP+BghiP) segnala una fonte da pirolisi di prodotti petroliferi, mentre nello il BghiP/IndP indica, nello specifico, come fonte la combustione dei motori a gasolio.

Sono quindi indicati dai diversi rapporti isomerici più combustibili e la cui pirolisi può aver causato la contaminazione. Carbone erba legno, e prodotti petroliferi, sia benzina che gasolio.

L'utilizzo dei diagrammi di dispersione segnalati precedentemente (Immagini 10.1, 10.2, 10.3, 10.4) può offrire una più immediata comprensione visiva dei risultati.

Grafico 10.28: utilizzo incrociato degli indici Fluo/(Fluo+Pyr) e Ant/(Ant+Phe)

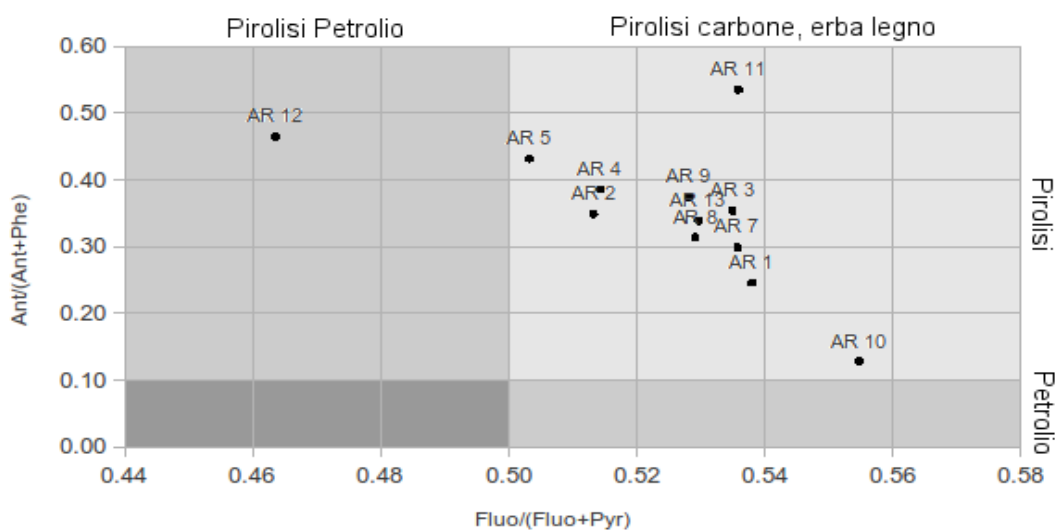


Grafico 10.29: utilizzo incrociato degli indici Fluo/(Fluo+Pyr) e BaA/(BaA+Chry)

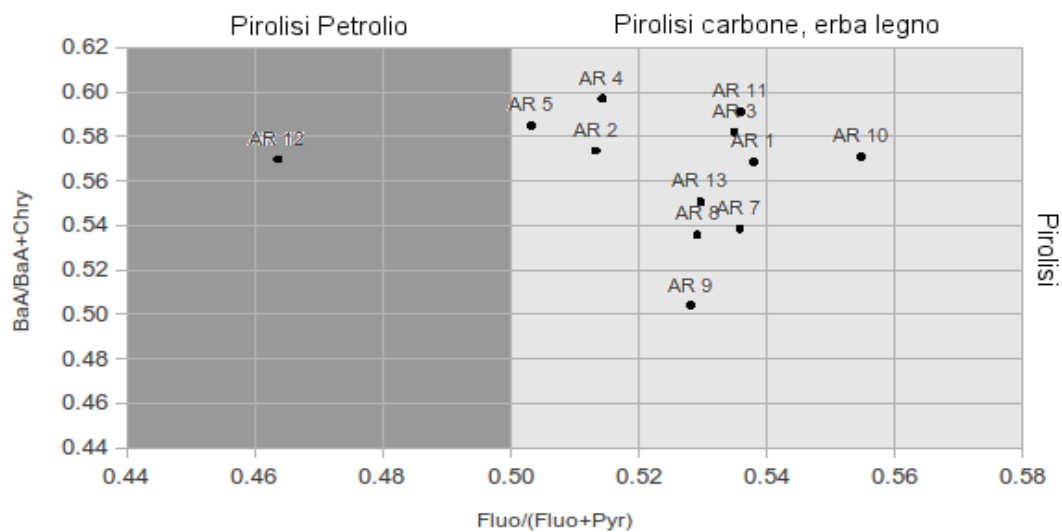


Grafico 10.30: utilizzo incrociato degli indici Fluo/(Fluo+Pyr) e IndP/(IndP+BghiP)

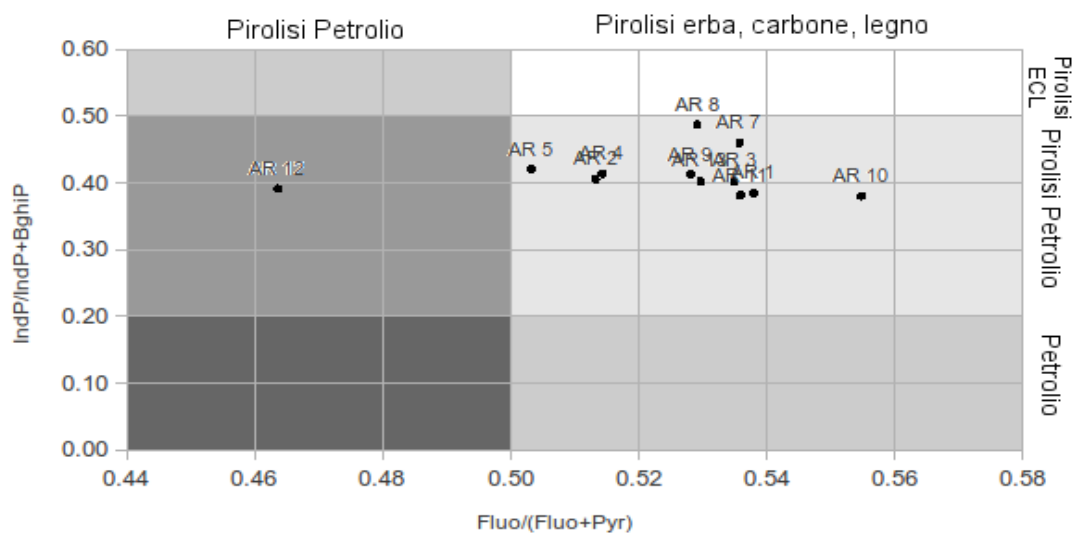
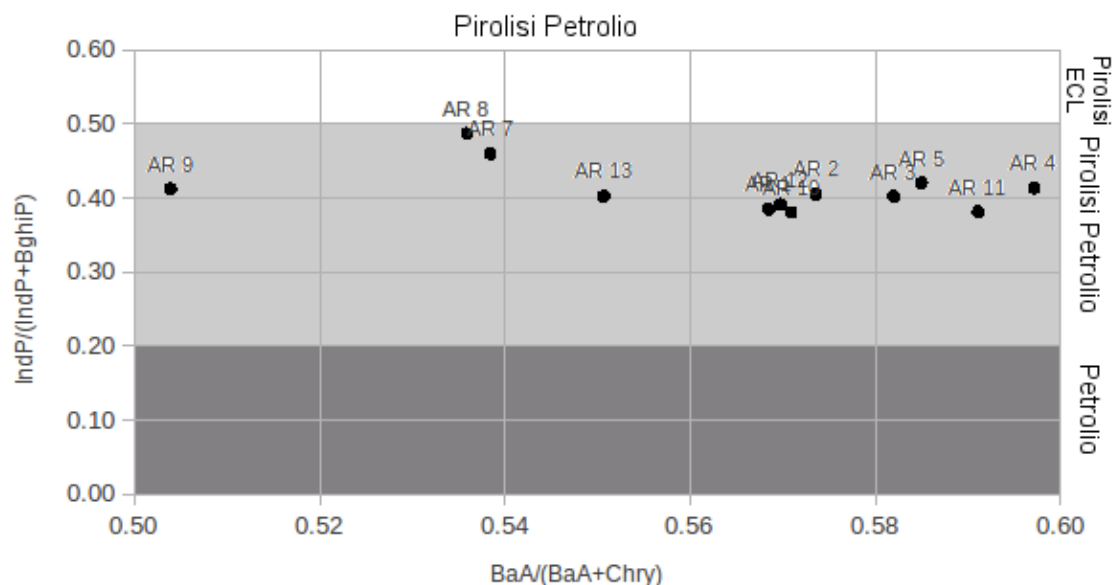


Grafico 10.31: utilizzo incrociato degli indici $BaA/(BaA+Chry)$ e $IndP/(IndP+BghiP)$ 

I Grafici 10.28, 10.29, 10.30 adottano come ascissa $Fluo/(Fluo+Pyr)$ e questo indice colloca, con l'eccezione del punto AR12, appartenente alla zona non trattata, tutti i campioni nella fascia della combustione di erba, legno, carbone. Gli indici in ordinata $Ant/(Ant+Phe)$, Grafico 10.28, e $BaA/(BaA+Chry)$, Grafico 10.29 si limitano a supportare il risultato attribuendo un fonte pirolitica. Invece i punti del Grafico 10.30 sono quasi tutti posti in una zona grigia in cui l'indice in ordinata, $IndP/(IndP+BghiP)$ fornisce un'origine da combustione di prodotti petroliferi. Il grafico 10.31, l'unico a non usare $Fluo/(Fluo+Pyr)$, infatti colloca i punti nella zona di pirolisi del petrolio.

Sebbene la fonte pirolitica sia evidente, l'incoerenza fra il $Fluo/(Fluo+Pyr)$ e gli altri indici assume rilevanza, essendo esso utilizzato in tre tipologie di grafici. Come già detto, è un indice molto raccomandato data la grande differenza di energia di formazione tra i due isomeri. Inoltre $Fluo$ e Pyr sono i due isomeri che hanno mostrato la maggiore resistenza alla degradazione. Se si applicano però questi quattro biplot anche ai campioni della carota C, dove non si è registrata una percentuale particolarmente elevata di $Fluo$ e Pyr , i risultati sono analoghi (Grafici 10.32, 10.33, 10.34, 10.35). Ovvero L'indice $Fluo/(Fluo+Pyr)$ continua ad attribuire come fonte la pirolisi di erba, legno e carbone.

Grafico 10.32: utilizzo incrociato degli indici Fluo/(Fluo+Pyr) e Ant/(Ant+Phe) sulla carota C

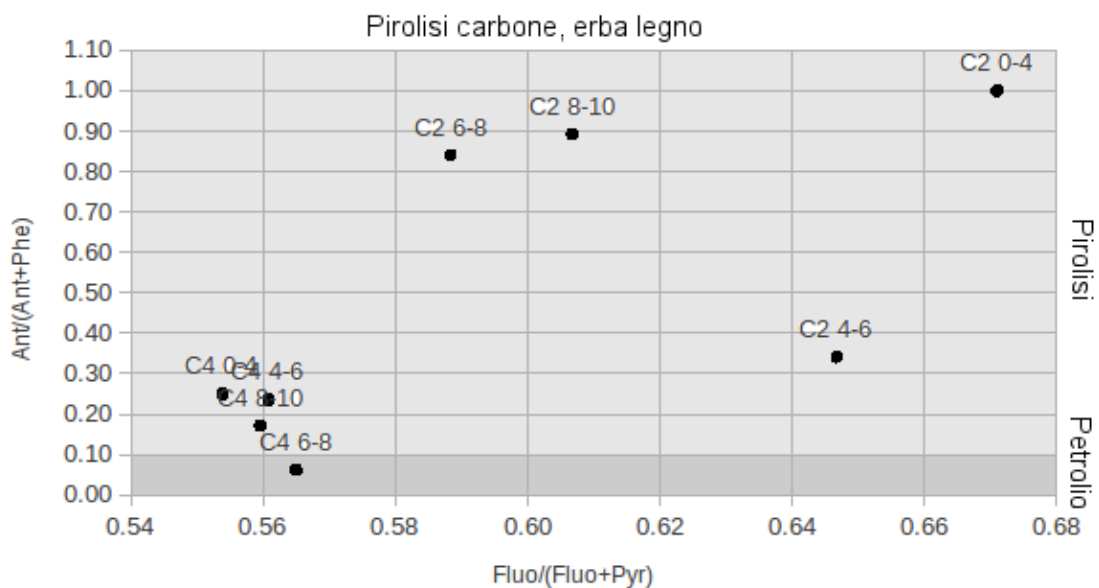


Grafico 10.33: utilizzo incrociato degli indici Fluo/(Fluo+Pyr) e BaA/(BaA+Chry) sulla carota C

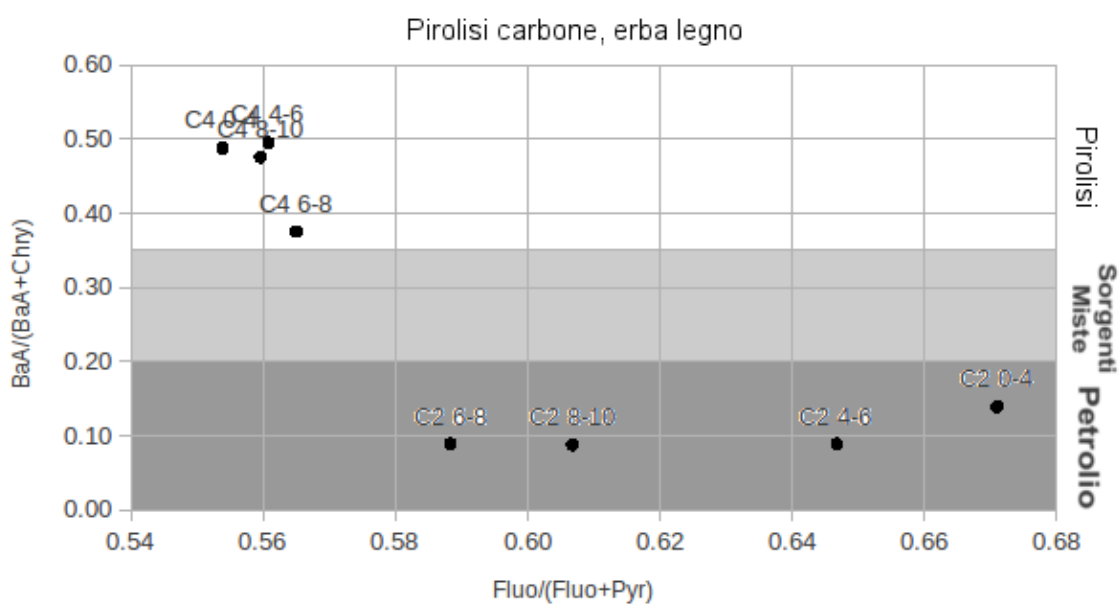


Grafico 10.34: utilizzo incrociato degli indici Fluo/(Fluo+Pyr) e IndP/(IndP+BghiP) sulla carota C

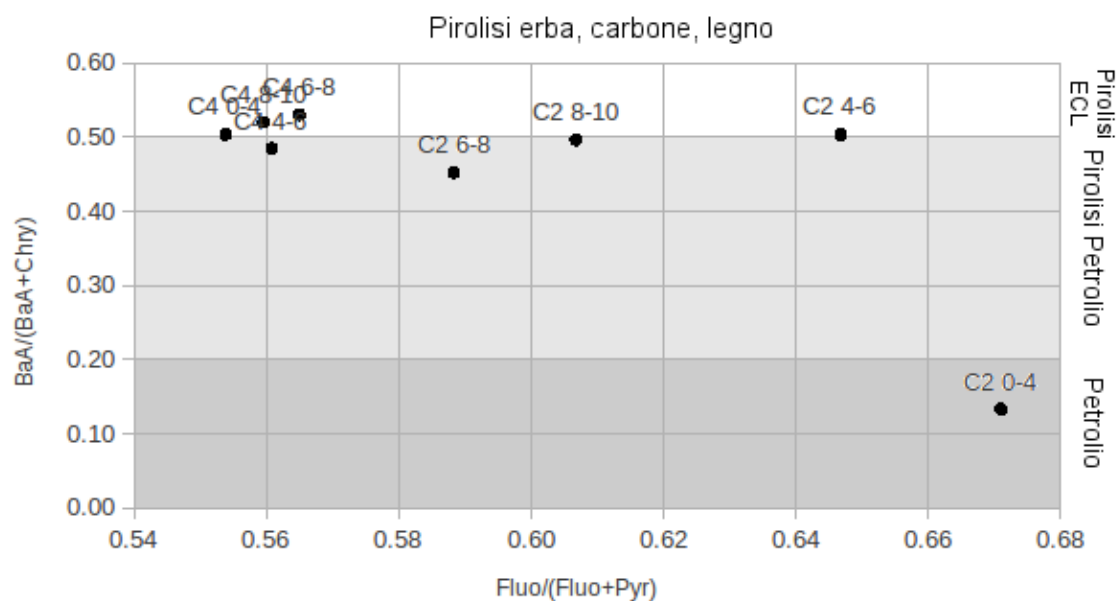
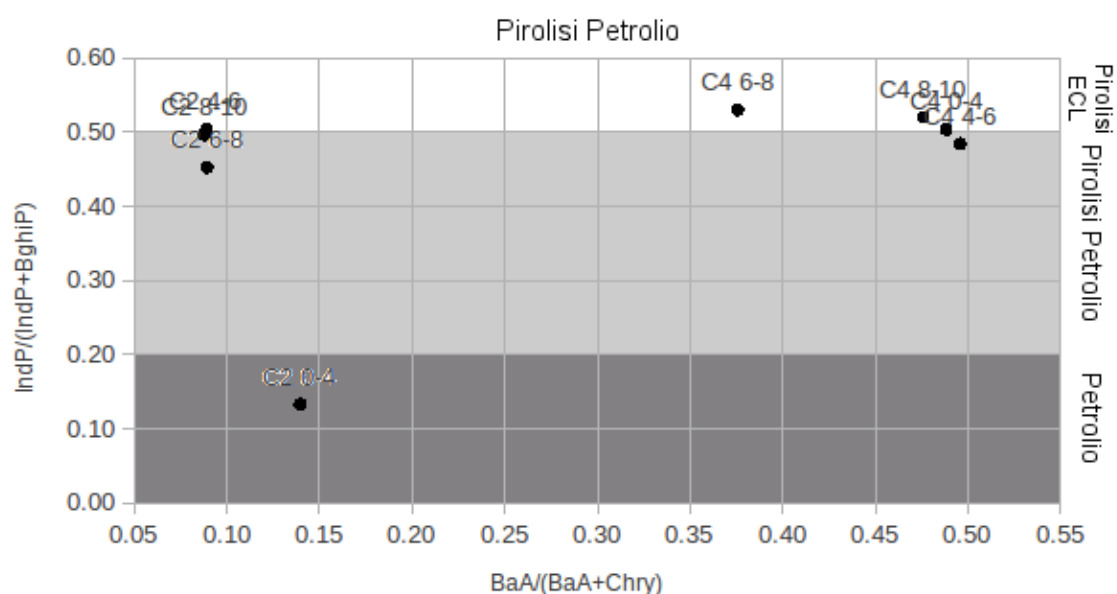


Grafico 10.35: utilizzo incrociato degli indici BaA/(BaA+Chry) e IndP/(IndP+BghiP) sulla carota C



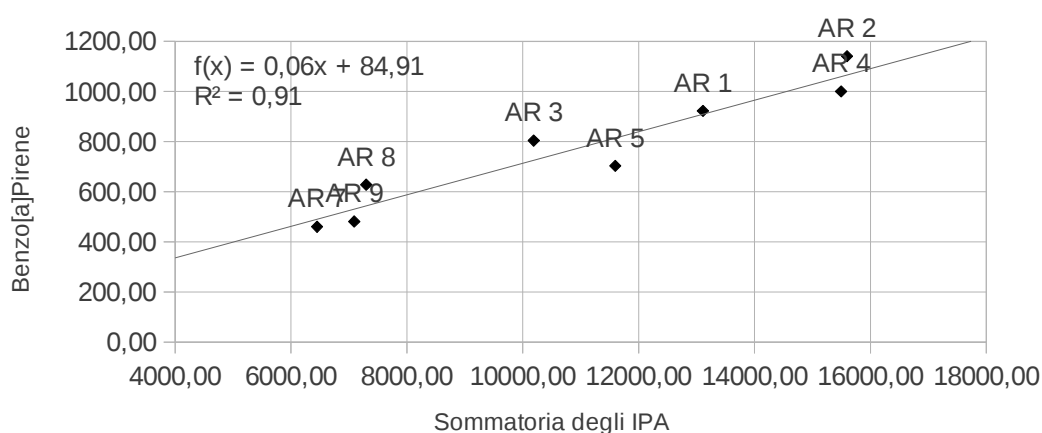
Pertanto la BIO₂REMEDIATION®, suo effetto persistente nel tempo e gli altri fattori che possono aver determinato la grande percentuale di Fluo e Pyr nella zona trattata sembrano non avere influenzato il risultato offerto dall'indice.

Sono già state citate come possibili cause dell'accumulo di questi composti i rilasci di depositi puntuali di particolato proveniente dalle attività di lavorazione del legno. E questa teoria assume nuova rilevanza, essendo il rapporto isomerico di Fluo e Pyr associato alla pirólisi di erba, legno carbone. Purtroppo mancano altri dataset necessari a supportare questa teoria. La deposizione del particolato atmosferico dovrebbe contribuire allo spostamento dei rapporti isomerici verso una pirólisi dei derivati del petrolio, essendo il

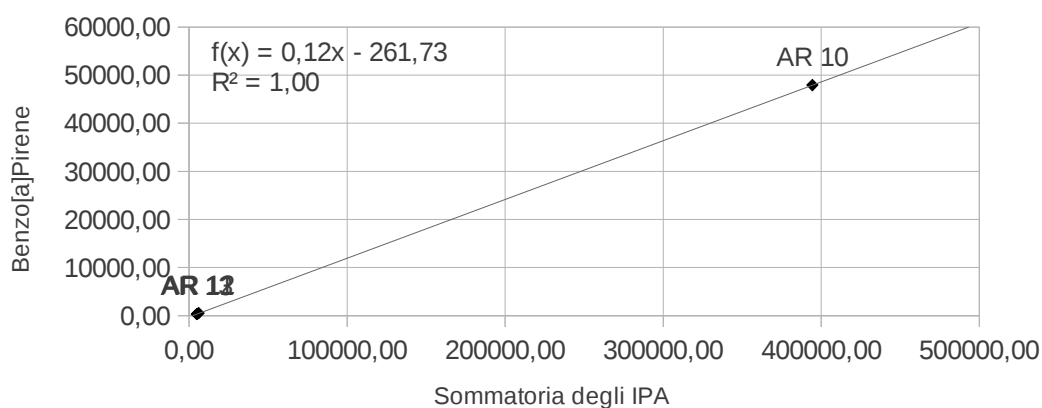
traffico navale alimentato con tali combustibili. Inoltre il riscaldamento domestico a Venezia, nonché quello dei forni per la lavorazione del vetro della vicina Murano, è per legge, esclusivamente a metano. L'influenza della centrale termoelettrica a carbone Andrea Palladio non può essere verificata, essendo i dati di monitoraggio dell'aria da parte dell'ARPAV incentrati sul BaP e sulla totalità degli IPA, senza quindi poter fornire i dati necessari all'elaborazione di un indice. Altra ipotesi, purtroppo indimostrabile, è il deposito da lavaggio di navi, essendo l'Arsenale una zona fino a qualche decennio fa densamente trafficata.

Per confermare la fonte pirolitica di questa contaminazione può anche essere adottata la correlazione fra il BaP e la totalità degli IPA. Essendo il BaP praticamente assente nel petrolio (Magi et al. 2001), un'elevata correlazione fra BaP e totalità degli IPA dimostrerà una fonte pirolitica. Abbiamo, sia nella zona trattata (Grafico 10.36) che quella non trattata (Grafico 10.37), i coefficienti di determinazione sono molto vicini all'unità, tanto che nella zona non trattata l'arrotondamento alla seconda decimale porta ad un valore unitario. L'elevata correlazione avvala l'ipotesi della fonte pirogenica.

**Grafico 10.36: Correlazione fra Σ IPA e BaP
Zona trattata**



**Grafico 10.37: Correlazione fra Σ IPA e BaP
Zona NON trattata**



Il coefficiente di determinazione è meno vicino all'unità nella zona trattata rispetto a quella non trattata. All'epoca del primo campionamento (Ravagnan, 2012) era stato osservato un caso analogo: la correlazione fra concentrazione di BaP e totalità degli IPA nelle diverse profondità di ogni singola carota si abbassava fra prima e dopo il trattamento. La causa era stata attribuita alla degradazione microbica, che essendo differentemente efficace sui diversi composti, e per diverse condizioni di crescita dei microrganismi, aveva cambiato le concentrazioni relative in modo non uniforme.

Per questo caso potrebbe essere dedotta una conclusione analoga, ovvero che la degradazione microbica ha alterato le normali concentrazioni relative di miscele di IPA di origine pirogenica. Il confronto tra i dati raccolti all'epoca dell'intervento e questi deve essere comunque fatto con molta cautela, trattandosi di carote atte a fornire informazioni sulla variabilità temporale e di profondità, mentre i campioni qui trattati sono stati prelevati con benna e forniscono informazioni sulla variabilità spaziale e confronto fra una zona non trattata e non trattata. In ogni caso l'effetto di disomogeneizzazione dei pattern di distribuzione è stato già ampiamente provato dall'aumento della concentrazione relativa di Fluo e Pyr.

11. CONCLUSIONI

Il metodo di lavoro ha portato alla conclusione che l'intervento di BIO₂REMEDIATION® ha avuto un effetto nel tempo di grande persistenza, essendo le concentrazioni di IPA della zona non trattata inferiori a quella della zona trattata.

Entrambe le zone hanno concentrazioni superiori a quelle registrate nell'intorno temporale dell'intervento, il che porta a supporre che siano avvenuti fenomeni di accumulo di grossa entità nel frattempo.

In ogni caso la differenza di concentrazione fra la zona trattata e i dati relativi al momento immediatamente successivo all'intervento, è inferiore a quella fra la zona non trattata e i dati relativi al momento precedente all'intervento. Ciò comporta che nella zona trattata c'è stato un accumulo inferiore dei composti, attribuibile alla degradazione microbica.

Anche le tossicità equivalenti corrispondenti a tali concentrazioni sono notevolmente diminuite.

L'efficacia di questo intervento è stata comunque inficiata dalla mancanza di una gestione della zona per il mantenimento dei risultati ottenuti. Di fatto i livelli di contaminazione sono aumentati per via di fonti pirolitiche.

Un secondo intervento di BIO₂REMEDIATION® potrebbe portare di nuovo le concentrazioni a livelli più contenuti. Essendo però presente nella zona trattata una comunità batterica attiva nella degradazione degli inquinanti organici, è più raccomandabile una strategia di gestione della zona finalizzata alla riduzione degli apporti di contaminanti, così da lasciare il loro abbattimento a carico delle attività microbiche già presenti.

Il metodo di lavoro, pur confermando la persistenza nel lungo periodo ha però lasciato alcuni dubbi.

Primo fra tutti la grande abbondanza di Fluo e Pyr. L'indagine sull'abbattimento di questi due isomeri ha fatto luce sulla carenza in letteratura, di studi dettagliati sulla biodegradazione degli IPA prioritari in sedimenti a condizioni ambientali. Tale carenza è comprensibile, vista la grossa variabilità dei fattori ambientali.

Di conseguenza, anche il valore del rapporto isomerico ad essi associato Fluo/(Fluo+Pyr) ha lasciato dei dubbi, spiegabili con teorie per la cui dimostrazione mancano i dati necessari. Uno storico dettagliato dei livelli di concentrazione degli IPA prioritari nei sedimenti prossimi o interni all'Arsenale, prima di tutto, e in secondo luogo un monitoraggio più approfondito degli IPA nell'aria da parte dell'ARPAV, che avrebbe perlomeno consentito di comprendere quale sia la fonte attuale dal particolato atmosferico.

Vista l'ipotesi del rilascio da depositi puntuali, un numero maggiore di campionamenti per entrambe le zone avrebbe probabilmente consentito una migliore stima della variabilità spaziale delle concentrazioni, e quindi l'identificazione di tali fonti.

Sebbene lo scopo dello studio sia stato verificare l'efficacia dell'intervento e non caratterizzare la comunità microbica, la possibilità di identificare le specie batteriche presenti avrebbe probabilmente reso più semplice, attraverso un confronto in letteratura, riconoscere le vie metaboliche in atto. Ciò non è detto vista la profonda differenza delle attività degradative di una comunità microbica in matrice ambientale rispetto a quella di

popolazioni selezionate in condizioni di laboratorio.

Si conclude affermando che la BIO₂REMEDIATION® è una tipologia di bonifica efficace, col valore aggiunto di innescare processi degradativi che persistono anche dopo la cessazione dell'intervento. Richiede però, come tutte le bonifiche, che la zona sia poi mantenuta per preservarne l'efficacia. In questo lavoro sono emersi diversi fattori di disturbo non identificabili con i dati raccolti e la conoscenza pregressa. Pertanto si raccomanda per futuri interventi campagne di campionamento più approfondite e si auspica per un maggiore dettaglio nei dati ambientali raccolti nei monitoraggi routinari.

12. ALLEGATO

In questo Allegato si riportano altri grafici e tabelle che non sono stati riportati nella trattazione principale per evitare la ridondanza dei dati.

Tabella 12.1: Concentrazioni degli IPA nelle carote di sedimento prelevate nell'intervento sul Canale sud di Porto Marghera.										
	Profondità (cm)	Naftalene (ng/g)	2-metil-naftalene (ng/g)	1-metil-naftalene (ng/g)	Acenaftilene (ng/g)	Acenaftene (ng/g)	Fluorene (ng/g)	Fenantrene (ng/g)	Antracene (ng/g)	Σ IPA (ng/g)
Carota A1	-2	781	120	86	3757	85	248	1929	153	7519
	-6	614	77	51	2548	62	235	1615	77	5278
	-8	3904	560	377	10430	446	195	1521	0	17434
	-10	2000	258	195	8907	204	297	2079	50	13990
Carota A3	-2	372	79	52	169	72	189	1292	2417	4642
	-6	242	49	32	1044	46	97	905	67	2483
	-8	745	170	120	3133	259	188	1280	96	5992
	-10	603	135	94	2146	259	111	1169	12	4529
Carota B1	-2	428	60	41	2703	55	262	1918	204	5670
	-6	366	53	38	2291	47	230	1664	209	4899
	-8	573	79	53	2728	79	244	1528	197	5482
	-10	455	67	45	2573	73	233	1663	167	5265
Carota B3	-2	1092	145	106	6798	168	311	2223	98	10941
	-6	1751	235	169	10641	260	282	2350	0	15688
	-8	1018	148	130	5650	171	337	2160	186	9801
	-10	1037	161	110	6171	167	430	2740	196	11011

La carota A corrisponde ad un punto più vicino all'impianto di ventilazione forzata, quella B è invece più distante. A1 e B1 sono campioni prelevati prima dell'intervento, mentre A3 e B3 sono stati prelevati successivamente all'intervento. **Fonte:** Criton Marta, A.A. 2002/2003.

Tabella 12.2: concentrazione nel campione B prima e dopo l'ossigenazione forzata nell'intervento all'Arsenale.

Carota		Carota B2, prima dell'ossigenazione					Carota B4, dopo l'ossigenazione			
Profondità (cm)		0-2	2-4	4-6	6-8	8-10	0-4	4-6	6-8	8-10
IPA leggeri	Napht	7.56	4.33	16.51	–	35.69	28.13	34.46	22.02	9.07
	Ace	7.46	5.14	4.20	6.53	14.90	7.78	30.57	9.53	6.90
	Acy	–	15.81	6.14	6.28	14.75	10.25	6.34	4.94	2.93
	FI	39.33	29.22	1.39	11.92	14.46	16.91	33.84	3.34	0.19
	Ant	133.08	139.55	33.52	285.59	163.05	–	110.16	–	37.91
	Phe	34.90	31.73	11.99	69.25	60.89	3.89	49.90	5.99	15.59
IPA pesanti	Fluo	402.88	266.34	113.60	642.70	602.22	46.16	582.53	49.73	173.30
	Pyr	346.19	233.57	97.77	510.75	487.98	39.56	470.19	43.53	142.99
	BaA	188.86	135.77	58.32	292.17	305.75	28.87	250.96	38.69	75.52
	Chry	201.53	145.22	58.03	319.57	284.32	33.15	234.37	44.19	73.41
	BaP	175.02	118.60	69.25	329.50	260.19	143.40	312.30	179.55	97.09
	BbF	125.93	79.24	45.22	218.52	211.97	105.27	232.69	112.08	71.19
	BkF	114.03	73.39	44.86	245.92	276.74	86.82	251.37	114.57	72.19
	BghiP	100.23	51.62	38.99	190.25	172.69	15.67	138.93	17.93	9.31
	IndP	90.96	48.81	42.58	206.77	179.14	60.96	147.23	73.46	45.76
	DbahA	24.32	13.46	10.97	47.07	37.12	94.50	48.00	103.44	66.54
Σ IPA		1992.28	1431.13	653.33	3382.81	3139.85	721.33	2933.85	822.97	899.89

I Grafici a colonna successivi (Grafici 12.1, 12.2, 12.3) mettono a confronto le tre tossicità equivalenti dei dodici campioni. Sono omologhi a quelli presenti nella trattazione principale, ma adottano la scala lineare, pertanto i valori molto elevati di AR10 rendono visivamente difficile stimare la variabilità degli altri campioni. Le scale usano massimi differenti quindi non possono essere direttamente messe a confronto.

I Grafici 12.4, 12.5, 12.6 riportano le tossicità relative secondo una scala lineare, ma il massimo è stato fissato ad un punto più basso dei valori di AR12, in modo da stimare la variabilità fra gli altri campioni. I massimi non sono identici per tutti i Grafici.

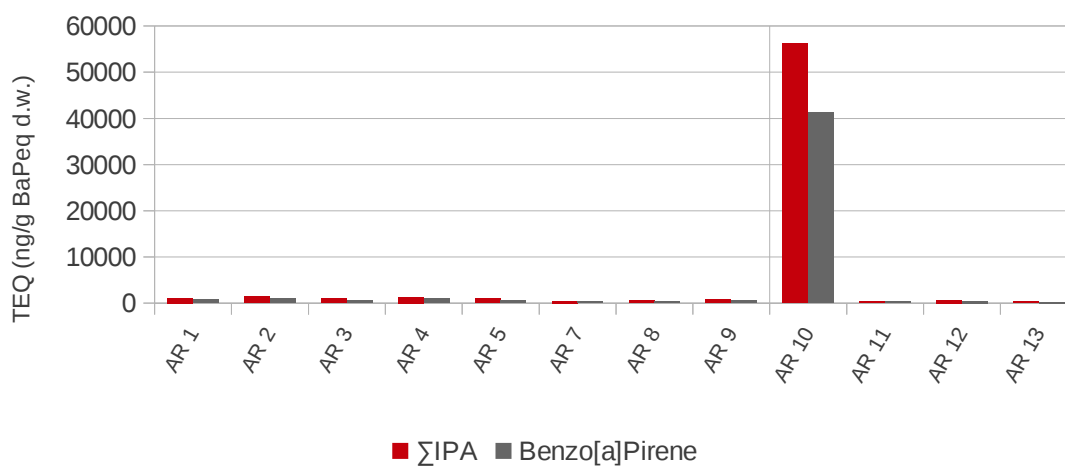
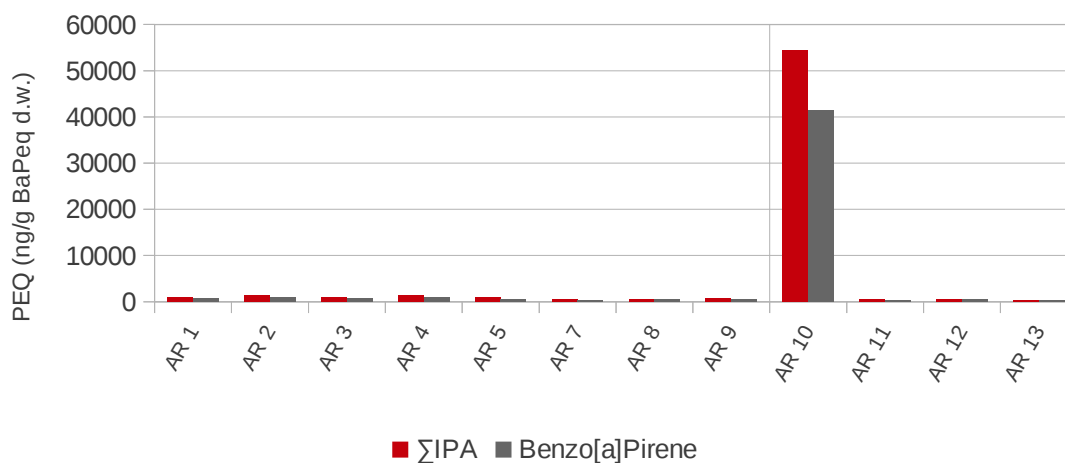
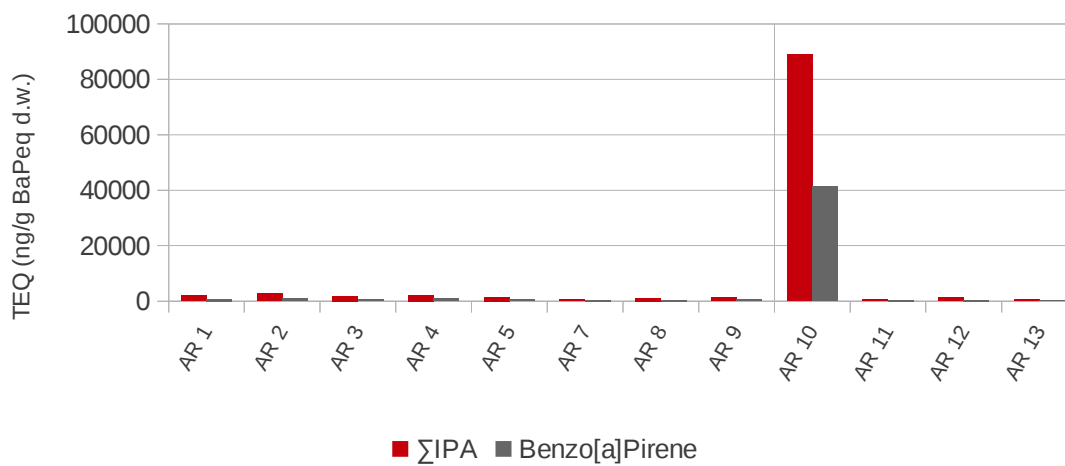
Grafico 12.1: TEQ US EPA, Scala lineare**Grafico 12.2: PEQ OEHHA, Scala lineare****Grafico 12.3: TEQ di Nisbet e LaGoy, Scala lineare**

Grafico 12.4: TEQ US EPA, Scala lineare, Massimo fissato a 1800 ng/g BaPeq d.w.

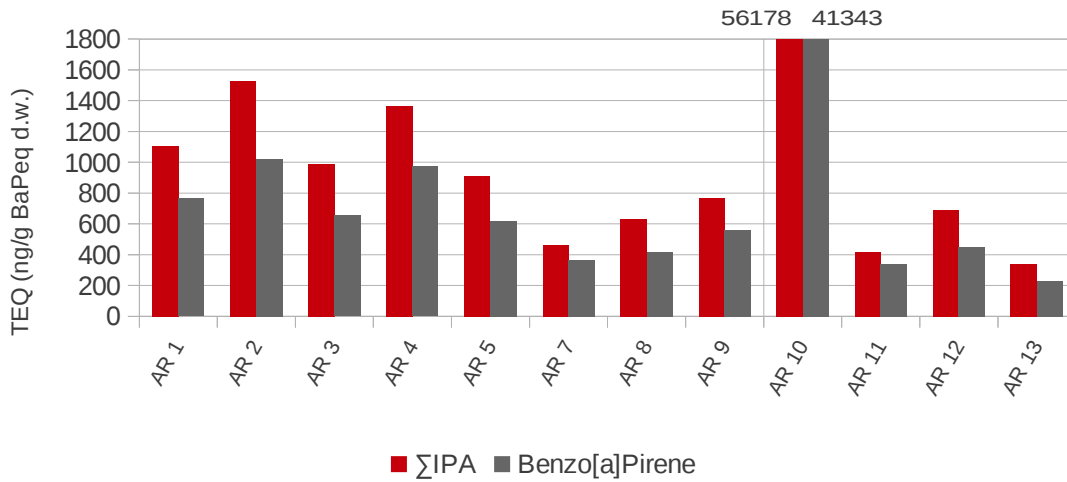


Grafico 12.5: PEQ OEHHA, Scala lineare, Massimo fissato a 1800 ng/g BaPeq d.w.

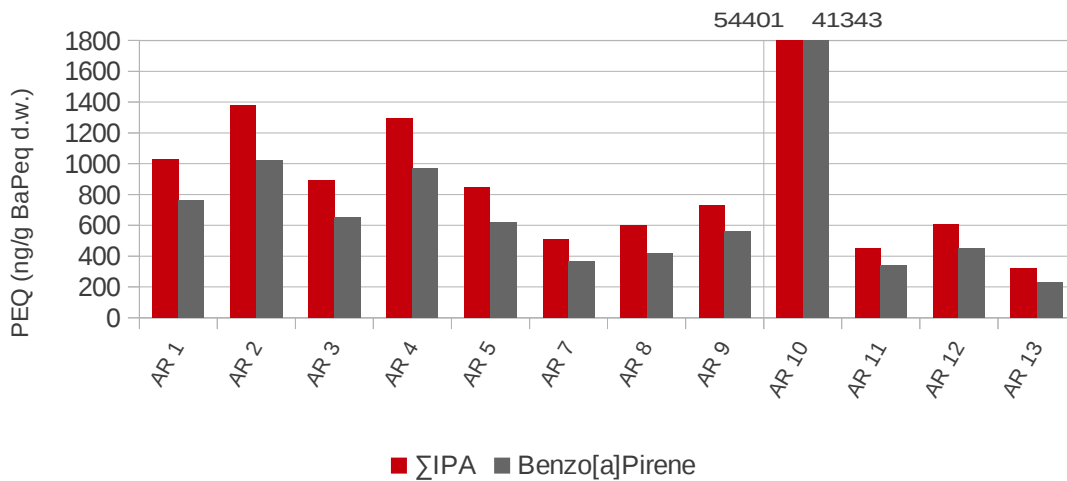
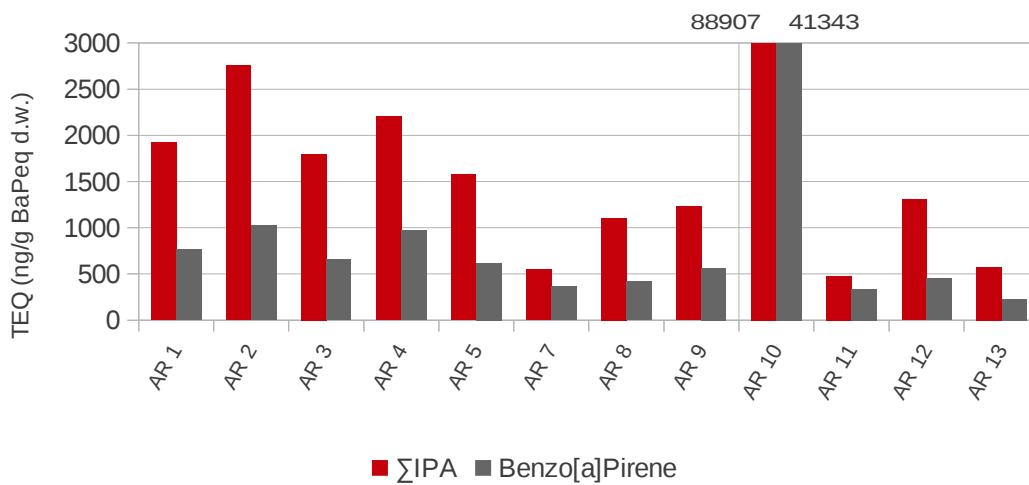


Grafico 12.6: TEQ Nisbet e LaGoy, 1992; Scala lineare; Max a 3000 ng/g BaPeq d.w.



I Grafici 12.7, 12.8 riportano il confronto fra le tre diverse scale di tossicità equivalente per ogni IPA per le concentrazioni medie della zona trattata (12.7) e non trattata (12.8) adottando una scala lineare. I valori del BaP e del DbahA sono molto alti e rendono difficile stimare i rimanenti.

Grafico 12.7: TEQ media zona trattata, scala lineare

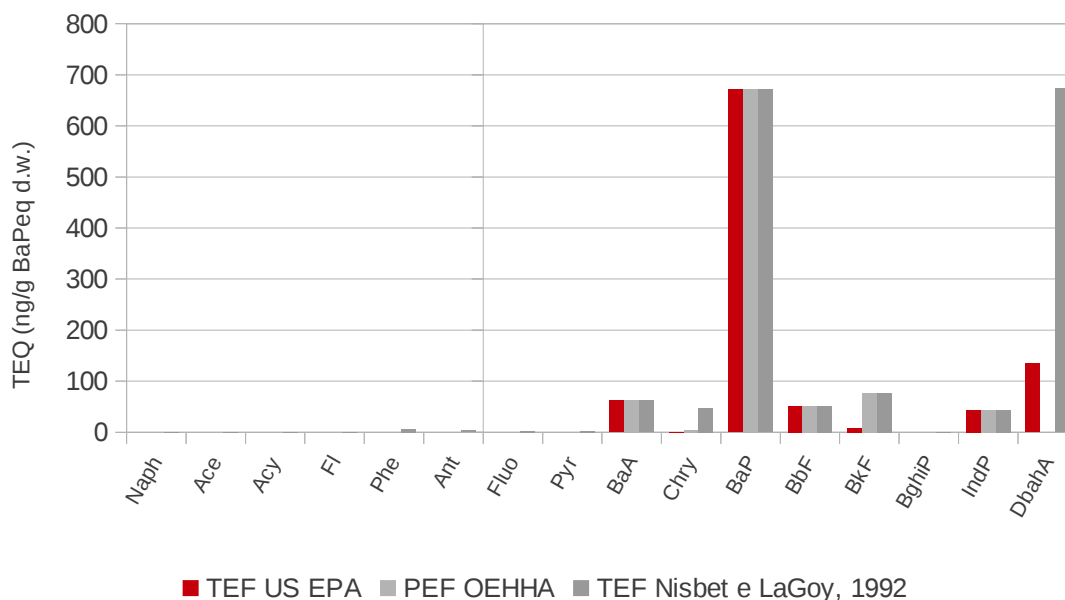
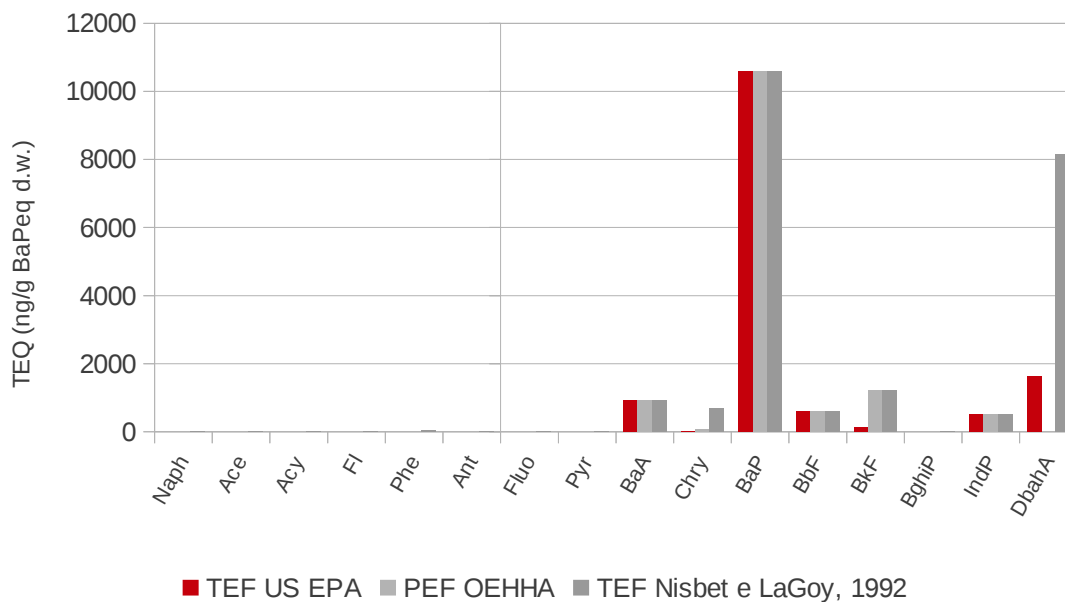
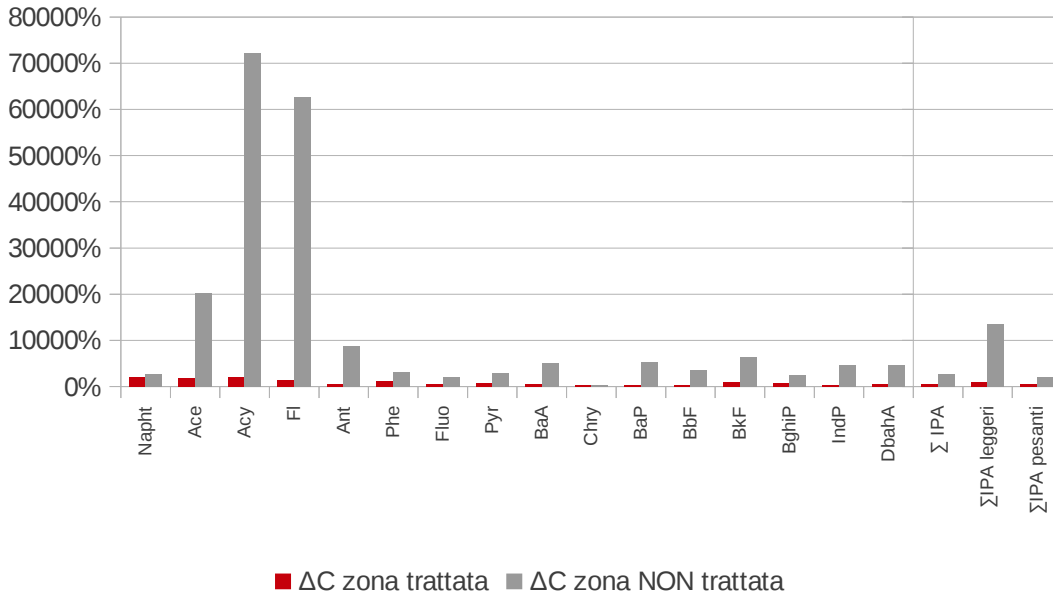


Grafico 12.8: TEQ media zona NON trattata, scala lineare

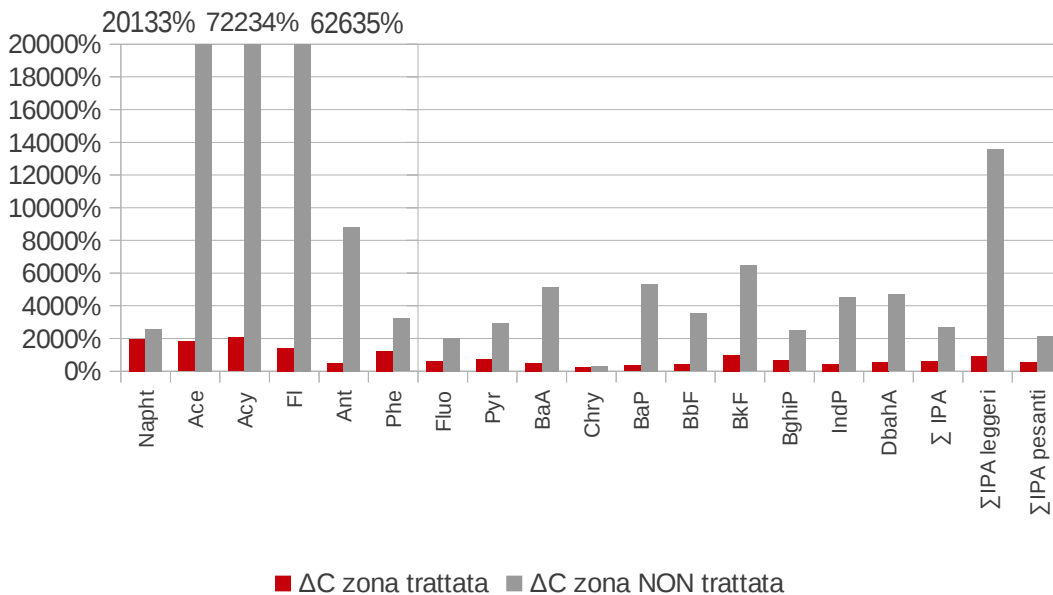


I Grafici 12.9 e 12.10 quantificano le variazioni delle concentrazioni rispetto all'epoca dell'intervento, allo stesso modo del Grafico 10.24. Utilizzano la scala lineare. Nel Grafico 10.9 è pertanto difficile stimare la variabilità degli IPA che non hanno avuto una variazione così netta rispetto ad Acy e Fl. Nel grafico 12.10 il massimo è quindi stato fissato ad un punto più basso, 20000%.

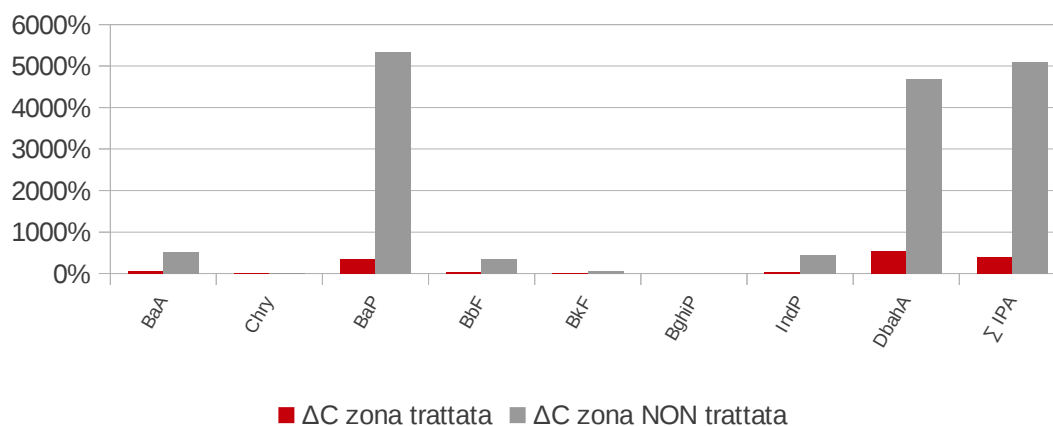
**Grafico 12.9: Variazioni delle concentrazioni rispetto all'epoca dell'intervento
Scala Lineare**



**Grafico 12.10: Variazioni delle concentrazioni rispetto all'epoca dell'intervento
Scala Lineare, Massimo fissato a 20000%**



**Grafico 12.11: Variazioni della TEQ US EPA (%) rispetto all'epoca dell'intervento
Scala Lineare**



**Grafico 12.12: Variazioni della PEF OEHTA (%) rispetto all'epoca dell'intervento
Scala Lineare**

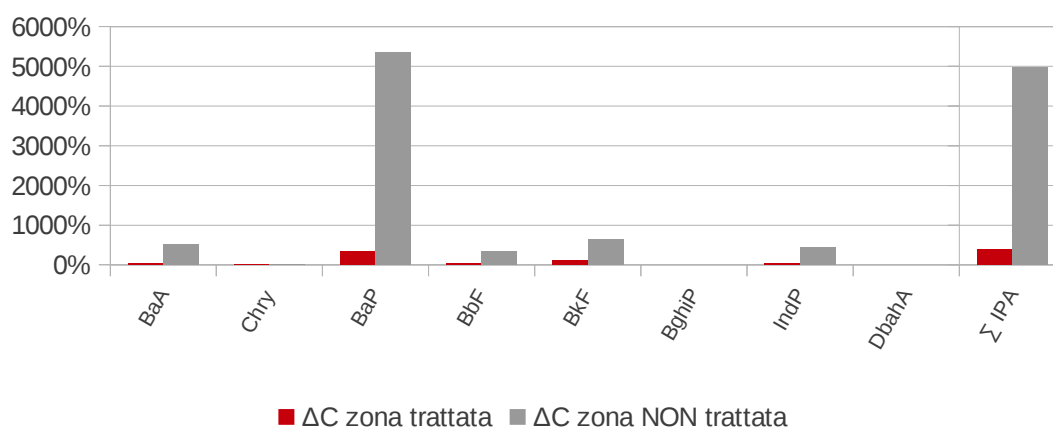
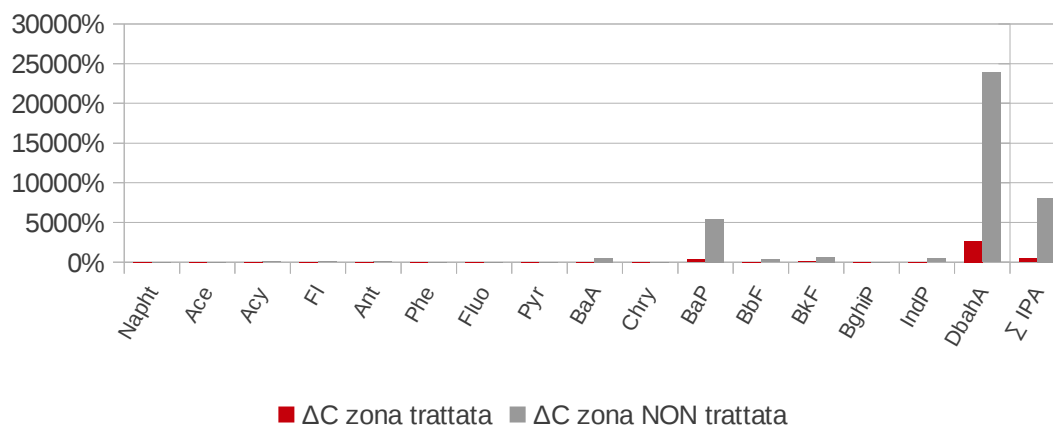


Grafico 12.13: Variazioni della TEQ Nisbet e LaGoy, 1992 (%) rispetto all'epoca dell'intervento, Scala Lineare



13. BIBLIOGRAFIA

Apitz S.E., Barbanti A., Bocci M., Carlin A., Montobbio L., Bernstein A. G.; 2007a; The Sediments of the Venice Lagoon (Italy) Evaluated in a Screening Risk Assessment Approach: Part I—Application of International Sediment Quality Guidelines; Integrated Environmental Assessment and Management; Vol. 3, No. 3; pp. 393–414 .

Apitz S.E., Barbanti A., Bocci M., Carlin A., Montobbio L., Bernstein A. G.; 2007b; The Sediments of the Venice Lagoon (Italy) Evaluated in a Screening Risk Assessment Approach: Part II—Lagoon Sediment Quality Compared to Hot Spots, Regional, and International Case Studies ; Integrated Environmental Assessment and Management; Vol. 3, No. 3; pp. 415–438.

Apitz S. E., Barbanti A, Bernstein A. G., Bocci M, Delaney E., Montobbio L.; 2007c; The Assessment of Sediment Screening Risk in Venice Lagoon and Other Coastal Areas Using International Sediment Quality Guidelines; Journal of Soils and Sediments; Vol 7 (5); pp. 326–341.

Baird W. M., Hooven L. A., Mahadevan B.; 2005; Carcinogenic Polycyclic Aromatic Hydrocarbon-DNA Adducts and Mechanism of Action ; Environmental and Molecular Mutagenesis; Vol. 45; pp. 106–114.

Benedetti M., Ciaprini F., Piva F., Onorati F., Fattorini D.; 2011; A multidisciplinary weight of evidence approach for classifying polluted sediments: Integrating sediment chemistry, bioavailability, biomarkers responses and bioassays ; Environment International; Vol.; pp. 17–28 .

Beolchini F. , Rocchetti L., Regoli F., Dell'Anno A.; 2010; Bioremediation of marine sediments contaminated by hydrocarbons; pp. Experimental analysis and kinetic modeling ; Journal of Hazardous Materials ; Vol. 182; pp. 403–407.

Blanco C., Speranza L., Defez R. ; Isolation and characterization of PAH degrading bacteria from polluted Venice lagoon ; Bianco C., Speranza L., Defez R. ; 2010; Journal of Biotechnology; Vol.150, Supplement 1; p. 212.

Boscolo R., Cacciatore F., Giovanardi O.; 2007; Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in transplanted Manila clams (*Tapes philippinarum*) from the Lagoon of Venice as assessed by PAHs/shell weight index: A preliminary study; Marine Pollution Bulletin Vol. 55; pp. 485–493.

Brookes P. and Lawley P.D.; 1964; Evidence for the binding of polynuclear aromatic hydrocarbons to the nucleic acids of mouse skin: relation between carcinogenic power of hydrocarbons and their binding to deoxyribonucleic acid; Nature; Vol. 202; pp. 781–784.

Budzinski H., Jones I., Bellocq J., Pierard C., Garrigues P.; 1997; Evaluation of sediment contamination by polycyclic aromatic hydrocarbons in the Gironde estuary. Marine Chemistry; Vol. 58; pp. 85–97.

Cerniglia C.E.; 1992; Biodegradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons;

Biodegradation; Vol. 3; pp. 351–368.

Chauhan A., Fazlurrahman, Oakeshott J. G., Jain R. K.; 2008; Bacterial metabolism of polycyclic aromatic hydrocarbons: strategies for bioremediation; *Indian Journal of Microbiology*; Vol. 48; pp. 95–113.

Collins J. F., Brown J. P., Alexeeff G. V., Salmon A. G.; 1998; Potency Equivalency Factors for Some Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Derivatives; *Regulatory Toxicology and Pharmacology* ; Vol. 28; pp. 45–54.

Collins J.F., Brown J.P., Dawson S.V., Marty M.A.; 1991; Risk assessment for benzo[a]pyrene; *Regulatory Toxicology and Pharmacology*; Vol. 13; pp. 170–184.

Cook J.W., Hewett C.L., Hieger I.; 1933; The isolation of a cancer-producing hydrocarbon from coal tar; *Journal of Chemical Society*; Vol. 395; pp. 1–3.

Fang M., Hsieh P, Ko F., Baker J. E., Lee C.; 2007; Sources and distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in the sediments of Kaoping river and submarine canyon system, Taiwan; *Marine Pollution Bulletin*; Vol. 54; pp. 1179–1189.

Fisher T. T., Law R. J., Rumney H. S., Kirby M. F., Kelly C.; 2011; Towards a scheme of toxic equivalency factors (TEFs) for the acute toxicity of PAHs in sediment; *Ecotoxicology and Environmental Safety* ; Vol. 74; No. 8; pp. 2245–2251.

Guo C., Dang Z., Wong Y., Tam N. F.; 2010 Biodegradation ability and dioxinase genes of PAH-degrading *Sphingomonas* and *Mycobacterium* strains isolated from mangrove sediments; *International Biodeterioration & Biodegradation*; Vol. 64; pp. 419–426.

Halek F., Nabi Gh., Kavousi A. ; 2008; Polycyclic aromatic hydrocarbons study and toxic equivalency factor (TEFs) in Tehran, Iran; *Environmental Monitoring Assessment*; Vol. 143; pp. 303–311.

Haritash A. K., Kaushik C.P.; 2009; Biodegradation aspects of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs): A review ; *Journal of Hazardous Materials*; Vol. 169; pp. 1–15 .

Heitkamp, M. A., Cerniglia C. E.; 1988; Mineralization of polycyclic aromatic hydrocarbons by a bacterium isolated from sediment below an oil field. *Applied Environmental Microbiology*; Vol. 54; pp. 1612–1614.

Ho Y., Jackson M., Yang Y., Mueller J. C., Pritchard P. H.; 2000; Characterization of fluoranthene- and pyrene-degrading bacteria isolated from PAH-contaminated soils and sediments; *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*; Vol. 24; pp.100–112.

International Agency for Research on Cancer [IARC]; 2010; Some non-heterocyclic Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and some related exposures ; *IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans*; Vol. 92; Lyon.

Ikhajiagbe B. and Anoliefo G. O.; 2011; Impact of substrate amendment on the polyaromatic hydrocarbon contents of a five month old waste engine oil polluted soil ; *African Journal of Environmental Science and Technology*; Vol. 5(10); pp. 769-777 .

International Programme on Chemical Safety [IPCS]; 1998; Environmental health criteria 202. Selected non-heterocyclic polycyclic aromatic hydrocarbons; World Health Organization; Geneva.

Juhasz A. L.; 1997; Pyrene Degradation and Metabolite Formation by *Burkholderia cepacia* Strain VUN 10,003; Australasian Biotechnology, Vol. 7, No. 6; pp. 350–354.

Juhasz A. L., Britz M. L., Stanley G. A.; 1997; Degradation of fluoranthene, pyrene, benz[a]anthracene and dibenz[a,h]anthracene by *Burkholderia cepacia*; Journal of Applied Microbiology; Vol. 83; pp. 189–198.

Juhasz A. L., Naidu R.; 2000; Bioremediation of high molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons: a review of the microbial degradation of benzo[a]pyrene; International Biodeterioration & Biodegradation; Vol. 45; pp. 57–88.

Kanaly, R.A., Harayama . S.; 2000; Biodegradation of high-molecular-weight polycyclic aromatic hydrocarbons by bacteria; Journal of Bacteriology; Vol. 182; pp. 2059–2067.

Khan F. I., Husain T., Hejazi R.; 2004; An overview and analysis of site remediation technologies ; Journal of Environmental Management; Vol. 71; pp. 95–122.

La Rocca C., Conti L., Crebelli R., Crochi B., Iacovella N., Rodriguez F., Turrio-Baldassarri L., Di Domenic o A.; 1996; PAH Content and Mutagenicity of Marine Sediments from the Venice Lagoon ; Ecotoxicology and Environmental Safety ; Vol. 33; pp. 236–245

LaGoy P. C. and Quirk T. C.; 1994; Establishing generic remediation goals for the polycyclic aromatic hydrocarbons: Critical issues; Environmental Health Perspective; Vol. 102; pp. 348 –352.

Law R. J., Kelly C., Baker K., Jones J., McIntoshb A. D.; Moffat C. F.; 2002; Toxic equivalency factors for PAH and their applicability in shellfish pollution monitoring studies ; Journal of Enviromental. Monitoring; Vol. 4; pp. 383–388 .

Lei L., Khodadoust A. P., Suidana M. T., Tabak H. H. ; 2005; Biodegradation of sediment-bound PAHs in field- contaminated sediment; Water Research; Vol. 39; pp. 349–361

Liu H., Yang C., Tian Y., Lin G., Zheng T.; 2010; Screening of PAH-degrading bacteria in a mangrove swamp using PCR–RFLP ; Marine Pollution Bulletin: Vol. 60; pp. 2056–2061.

Liu Y., Reeves D., Kropachev K, Cai Y., Ding S., Kolbanovskiy M., Kolbanovskiy A., Bolton J. L., Broyde S., Van Houten B., Geacintov N. E.; 2011; Probing for DNA damage with β -hairpins: Similarities in incision efficiencies of bulky DNA adducts by prokaryotic and human nucleotide excision repair systems in vitro; DNA Repair; Vol. 10; pp. 684–696.

Magi E., Bianco R., Ianni C., Di Carro M.; 2002; Distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in the sediments of the Adriatic Sea ; Environmental Pollution; Vol. 119; pp. 91–98 .

Magistrato alle Acque di Venezia, 2004, Rapporti finali progetto “ICSEL” .

Mahaffey, W. R., Gibson D. T. , Cerniglia C. E.; 1988; Bacterial oxidation of chemical carcinogens: formation of polycyclic aromatic acids from benz[a]anthracene; *Applied Environmental Microbiology*; Vol. 54; pp. 2415–2423.

Marcon R., Bestetti G., Frati F., Pepi M., Baldi F.; 2007; Naphthalene and biphenyl oxidation by two marine *Pseudomonas* strains isolated from Venice Lagoon sediment; *International Biodeterioration & Biodegradation*; Vol. 59; pp. 25–31.

Masclat, P., Mouvier, G., and Nikolaou, K.; 1986; Relative Decay Index and Sources of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons; *Atmospheric Environment*; Vol. 20; No. 3; pp. 439–446.

Mastrangelo G., Fadda E., Marzia V.; 1996; Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Cancer in Man; *Environmental Health Perspectives*; Vol. 104; No. 11; pp. 1166–1170.

Michelsen, D. and Lofti, M.; 1993; Oxygen microbubble injection for in situ bioremediation: Possible field scenario; *Biological Processes: Innovative Waste Treatment Technology Series*; Vol. 3.; Freeman, H. M. and Sferra, P. R., Eds., Technomic Publishing, Lancaster, PA.

Mueller, J. G., Chapman P. J., Pritchard P. H.; 1989; Action of a fluoranthene-utilizing bacterial community on polycyclic aromatic hydrocarbon components of creosote; *Applied Environmental Microbiology*; Vol. 55; pp. 3085–3090.

Nisbet I. C. T. and LaGoy P. K.; 1992; Toxic equivalency factors (TEFs) for polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs); *Regulatory Toxicology Pharmacology*; Vol. 16; pp. 290–300.

Office of Environmental Health Hazard Assessment [OEHHA]; 2005 ; Air Toxics Hot Spots Program Risk Assessment Guidelines, Part II , Technical Support Document for Describing Available Cancer Potency Factors; Office of Environmental Health Hazard Assessment, California Environmental Protection Agency [Cal-EPA]

Okajima T., Shirakawa Y., Hashikawa A.; 2002; On the reaction of mutagenic a⁻atoxin B1 oxide and benz[a]pyrene diol oxide with guanine residue in DNA double helix; *Journal of Molecular Structure (Theochem)*; Vol. 581; pp. 157–166

Perelo L. W. ; 2010; Review: In situ and bioremediation of organic pollutants in aquatic sediments ; *Journal of Hazardous Materials*; Vol. 177; pp. 81–89.

Phillips, D. H.; 1999; Polycyclic aromatic hydrocarbons in the diet ; *Mutation Research*; Vol. 443; pp. 139–147 .

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

Quiroz R., Grimalt J., Fernandez P.; 2010; Toxicity assessment of polycyclic aromatic

hydrocarbons in sediments from European high mountain lakes; *Ecotoxicology and Environmental Safety*; Vol. 73; pp. 559–564.

Ravagnan G.; 2012; Progetto Arsenale: gli esiti della bio₂remediation - rapporto finale 2012; in “programma di ricerca finalizzato all’acquisizione di nuove conoscenze per la salvaguardia della laguna di Venezia, del bacino scolante e del mare antistante”, CORILA (consorzio per la gestione del centro di coordinamento delle attività di ricerca inerenti il sistema lagunare di Venezia), Venezia.

Readman J.W., Mantoura R.F., Rhead M.M.; 1987; A record of polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) pollution obtained from accreting sediments of the Tamar estuary, UK: evidence for non-equilibrium behaviour of PAH. *Science of Total Environment*; Vol. 66; pp. 73–94.

Ravera O.; 2000; The Lagoon of Venice : the result of both natural factors and human influence; *Journal of Limnology*; Vol. 59; No. 1; pp. 19–30.

Samanta, S.K., Singh, O.V., Jain, R.K.; 2002; Polycyclic aromatic hydrocarbons: environmental pollution and bioremediation; *Trends Biotechnology*; Vol. 20; pp. 243–248.

Schneider, J., Grosser R., Jayasimhulu K., Xue W., Warshawsky D.; 1996; Degradation of pyrene, benz[a]anthracene, and benzo[a]pyrene by *Mycobacterium* sp. strain RJGII-135, isolated from a former coal gasification site. *Applied Environmental Microbiology*; Vol. 62; pp. 13–19.

Secco T., Pellizzato F., Sfriso A., Pavoni B.; 2005; The changing state of contamination in the Lagoon of Venice, Part 1: organic pollutants; *Chemosphere*; Vol 58; pp. 279–290.

Seo J., Keum Y., Li Q. X.; 2009; Bacterial Degradation of Aromatic Compounds; *International Journal of Environmental Research and Public Health*; Vol. 6; pp. 278–309.

Soclo H. H., Garriguesà Ph., Ewaldà M. ; 2000; Origin of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in Coastal Marine Sediments: Case Studies in Cotonou (Benin) and Aquitaine (France) Areas ; *Marine Pollution Bulletin*; Vol. 40, No. 5; pp. 387–396 .

Suthersan S.S.; 1999; *In Situ Bioremediation ; Remediation engineering: design concepts*, Ed. Suthersan S.S.

Tian Y., Liu H. J., Zheng T. L., Kwon K. K., Kim S.J., Yan C.L. ; 2008; PAHs contamination and bacterial communities in mangrove surface sediments of the Jiulong River Estuary, China ; *Marine Pollution Bulletin*; Vol. 57; pp. 707–715

Ufficio di Piano ex DPCM 13 febbraio 2004 ; 2008; *Rapporto Tematico: Lo stato ecologico della Laguna*.

Ufficio di Piano ex DPCM 13 febbraio 2004 ; 2010; *Rapporto Tematico: La gestione dei sedimenti contaminati nella Laguna di Venezia*.

United States Environmental Protection Agency [US EPA]; 1993; *Provisional Guidance for Quantitative Risk Assessment of PAH*; EPA 600-R-93-089.

United States Environmental Protection Agency, Office Of Underground Storage Tanks [US EPA OSWER]; 2004; How to Evaluate Alternative Cleanup Technologies for Underground Storage Tank Sites - A Guide for Corrective Action Plan Reviewers, Chapter 12, Enhanced Aerobic Bioremediation; EPA 510-R-04-002.

Wetzel D. L., Van Vleet E. S.; 2003; Persistence of petroleum hydrocarbon contamination in sediments of the canals in Venice, Italy: 1995 and 1998; *Marine Pollution Bulletin*; Vol 46; pp. 1015–1023.

Wood, A. W, Levin W., Lu A. Y. H., Ryan D., West S.B., Lehr R. E. , Schaefer-Ridder M., Jerina D. M., Conney A. H.; 1976; Mutagenicity of metabolically activated benzo[a]anthracene 3,4-dihydrodiol: Evidence for bay region activation of carcinogenic polycyclic hydrocarbons; *Biochemical and Biophysical Research Communications*; Vol. 72; Issue 2; pp. 680–686.

Xia X.H., Yu H., Yang Z.F., Huang G.H.; 2006; Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in the natural waters of the Yellow River: Effects of high sediment content on biodegradation; *Chemosphere*; No. 65; pp. 457–466.

Yang, S.Y.N., Connell, D.W., Hawker, D.W., Kayal, S.I.; 1991; Polycyclic aromatic hydrocarbons in air, soil and vegetation in the vicinity of an urban roadway; *The Science of the Total Environment*; Vol. 102; pp. 229–240.

Yim U.H. , Hong S.H., Shim W.J., Oh J.R., Chang M.; 2005; Spatio-temporal distribution and characteristics of PAHs in sediments from Masan Bay, Korea; *Marine Pollution Bulletin*; Vol 50; pp. 319–326.

Yunker M. B., Macdonald R. W., Vingarzanc R., Mitchell R. H., Goyettee D., Sylvestre S.; 2002 ; PAHs in the Fraser River basin: a critical appraisal of PAH ratios as indicators of PAH source and composition ; *Organic Geochemistry*; Vol. 33; pp. 489–515 .

Zhang J., Cai L., Yuan D., Chen M.; 2004; Distribution and sources of polynuclear aromatic hydrocarbons in Mangrove surficial sediments of Deep Bay, China; *Marine Pollution Bulletin*; Vol 49; pp. 479–486.

Zonta R., Botter M., Cassin D., Pini R., Scattolin M, Zaggia L.; 2007; Sediment chemical contamination of a shallow water area close to the industrial zone of Porto Marghera (Venice Lagoon, Italy) ; *Marine Pollution Bulletin*; Vol 55; pp. 529–542.

Zonta R., Zaggia L., Collavini F., Costa F., Scattolin, M.; 2005. ; Sediment contamination assessment of the Venice canal network (Italy); In: Fletcher C.A., Spencer T. (Eds.); *Flooding and Environmental Challenges for Venice and its Lagoon: State of Knowledge*; Cambridge University Press, UK; pp. 603–615.

13.1 Tesi consultate

Citron Marta; A.A. 2002/2003; Studio dell'effetto dell'ossigenazione forzata (BIO2REMEDICATION) sulla struttura dei sedimenti e sulla concentrazione di microinquinanti organici (IPA e PCB); Università Cà Foscari di Venezia; Facoltà di Scienze Matematiche, Fisiche e Naturali; Corso di Laurea in Scienze Ambientali

Edvige Marotta; A.A. 2006/2007; Dissezione dei meccanismi di riparazione implicati nella rimozione delle lesioni indotte dagli Idrocarburi Policiclici Aromatici ; Università' Degli Studi Della Tuscia – Viterbo ; Dipartimento di Agrobiologia e Agrochimica ; Corso di Dottorato di Ricerca in “Evoluzione Biologica E Biochimica” – XIX Ciclo.

13.2 Materiale di studio

Pavoni B. ; A.A. 2010/2011; Dispense del corso di chimica dell'ambiente

13.3 Fonti Legislative

Direttiva del Consiglio del 4 maggio 1976 n. 76/464/CEE concernente l'inquinamento provocato da certe sostanze pericolose scaricate nell'ambiente idrico della Comunità (G.U. n. L 129 del 18/05/1976)

Direttiva 2000/60/CE del Parlamento europeo e del Consiglio del 23 ottobre 2000

che istituisce un quadro per l'azione comunitaria in materia di acque.

Decisione n. 2455/2001/CE del Parlamento Europeo e del Consiglio del 20 novembre 2001 relativa all'istituzione di un elenco di sostanze prioritarie in materia di acque e che modifica la direttiva 2000/60/CE

Direttiva 2008/105/CE del Parlamento Europeo e del Consiglio del 16 dicembre 2008 relativa a standard di qualità ambientale nel settore della politica delle acque, recante modifica e successiva abrogazione delle direttive del Consiglio 82/176/CEE, 83/513/CEE, 84/156/CEE, 84/491/CEE e 86/280/CEE, nonché modifica della direttiva 2000/60/CE del Parlamento europeo e del Consiglio.

Decreto Ministeriale 5 febbraio 1998 . Ministro dell'ambiente, di concerto con i Ministri della sanità, dell'industria, del commercio e dell'artigianato e per le politiche agricole. Individuazione dei rifiuti non pericolosi sottoposti alle procedure semplificate di recupero ai sensi degli articoli 31 e 33 del Decreto Legislativo 5 Febbraio 1997, n. 22 . (G.U. 16 aprile 1998, Suppl. Ordinario n. 88)

Decreto Ministeriale 6 novembre 2003, n. 367: Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio. Regolamento concernente la fissazione di standard di qualità nell'ambiente acquatico per le sostanze pericolose, ai sensi dell'articolo 3, comma 4, del decreto legislativo 11 maggio 1999, n. 152. (G.U. n. 5 del 8-1-2004)

Decreto Legislativo 3 aprile 2006, n. 152: Norme in materia ambientale. (G.U. n. 88 del 14-4-2006 - Suppl. Ordinario n. 96)

Decreto Legislativo 16 gennaio 2008, n. 4: Ulteriori disposizioni correttive ed integrative del decreto legislativo 3 aprile 2006, n. 152, recante norme in materia ambientale. (G.U. n. 24 del 29-1-2008 - Suppl. Ordinario n. 24/L)

Decreto Ministeriale 7 novembre 2008: Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare. Disciplina delle operazioni di dragaggio nei siti di bonifica di interesse nazionale, ai sensi dell'articolo 1, comma 996, della legge 27 dicembre 2006, n.

296. (G.U. n. 284 del 4-12-2008)

Decreto Legislativo 14 aprile 2009 n. 56: Regolamento recante criteri tecnici per il monitoraggio dei corpi idrici e l'identificazione delle condizioni di riferimento per la modifica delle norme tecniche del decreto legislativo 3 aprile 2006, n. 152, recante Norme in materia ambientale, predisposto ai sensi dell'articolo 75, comma 3, del decreto legislativo medesimo. (G.U. n. 124 del 30-5-2009 - Suppl. Ordinario n. 83)

Decreto Legge 24 gennaio 2012, n. 1. Disposizioni urgenti per la concorrenza, lo sviluppo delle infrastrutture e la competitività. (G.U. n. 19 del 24-1-2012. Suppl. Ordinario n. 18)

Legge 24 marzo 2012 n. 27. Conversione in legge, con modificazioni, del decreto-legge 24 gennaio 2012, n. 1, recante disposizioni urgenti per la concorrenza, lo sviluppo delle infrastrutture e la competitività. (G.U. n.71 del 24-3-2012. Suppl. Ordinario n. 53)