

**ALMA MATER STUDIORUM  
UNIVERSITA' DI BOLOGNA**

FACOLTA' DI SCIENZE MATEMATICHE, FISICHE E NATURALI  
Corso di Laurea Magistrale in Scienze per l'Ambiente

**Approccio SEM-AVS (*Simultaneously Extracted Metals-Acid  
Volatile Sulfides*) per la valutazione del rischio  
ambientale dei metalli nei sedimenti della Pialassa  
Baiona**

Relatore:

Dott.ssa **ROBERTA GUERRA**

Presentata da

Dott.ssa **LAURA BORGOGNONI**

Correlatore:

Dott. **Enrique Garcia Luque**

II Sessione  
Anno accademico 2010 - 2011



### **RINGRAZIAMENTI**

Ringrazio il Dott. Zannoni Denis e il Dott. Ponti Massimo per la disponibilità e l'aiuto che mi hanno dato in questo lavoro di tesi, nonché il Dott. Fabbri Daniele per avermi dato disponibilità nell'uso del laboratorio ed essere stato disponibile ad eventuali confronti sui dati ottenuti.

Un ringraziamento va inoltre alla mia famiglia che in questi anni mi ha sostenuta e appoggiata in tutte le mie scelte.



## SOMMARIO

### OBIETTIVO

<b>1. INTRODUZIONE</b>	9
1.1 Le lagune costiere	9
1.1.1 Fattori di stress	10
1.1.2 L'eutrofizzazione	13
1.2 Inquadramento dell'area di studio: la Pialassa Baiona	15
1.3 Vincoli normativi	17
<b>2. I SEDIMENTI</b>	20
2.1 Caratteristiche dei sedimenti	20
2.1.1 I metalli pesanti: speciazione e biodisponibilità	20
2.1.2 Introduzione ai composti dello zolfo	24
2.2 Acid Volatile Sulfide (AVS)	27
2.2.1 Tossicità del solfuro	31
2.3 Simultaneously Extracted Metals (SEM)	33
2.3.1 Tossicità dei SEM	36
2.4 Evoluzione delle tecniche analitiche per l'estrazione degli AVS	41
<b>3. MATERIALI E METODI</b>	44
3.1 Disegno di campionamento	44
3.2 Tecnica di estrazione e analisi dei metalli pseudo totali	46
3.3 Determinazione di Simultaneously Extracted Metals / Acid Volatile Sulfide (SEM/AVS)	48
3.4 Reagenti e calibrazione dello spettrofotometro	49
3.5 Controllo qualità di estrazione	52
3.6 Analisi statistica dei campioni	55
<b>4. RISULTATI E DISCUSSIONI</b>	58
4.1 Metalli totali	58
4.2 Simultaneously Extracted Metals (SEM) e Acid Volatile Sulfide (AVS)	62
4.3 Analisi di correlazione tra le variabili	69
4.4 Distribuzione geografica dei metalli pseudo totali, SEM e AVS nei sedimenti della Pialassa Baiona	69
<b>5. CONCLUSIONI</b>	76

### ALLEGATI



## OBIETTIVI

Questa tesi si propone lo scopo di valutare il rischio associato ai metalli bivalenti presenti nei sedimenti della Pialassa Baiona attraverso tre approcci. Questo ambiente costiero è sottoposto a diversi vincoli normativi, visto il suo inquadramento tra le aree SIC e ZPS, e soggetto a diverse sorgenti di disturbo antropico, più intense negli anni '50-'70.

Il primo approccio riguarda la determinazione della frazione biodisponibile dei metalli presenti nei sedimenti della Pialassa Baiona nei confronti del biota acquatico, che è stata effettuata determinando i solfuri acidi volatili (AVS) e i metalli estraibili simultaneamente (SEM) (Herbert, 1993).

Alcuni studi hanno mostrato come il rapporto tra questi due parametri (SEM/AVS) esprime la biodisponibilità dei metalli bivalenti e quindi la loro tossicità nei confronti del biota residente nei sedimenti; infatti, è stato sperimentalmente verificato che se il rapporto tra SEM e AVS è minore di uno, la mortalità degli organismi oggetti di studio è minore del 20%, mentre se tale rapporto eccede il valore di uno, la mortalità sale rapidamente a più del 40% (Gerald et al., 1991).

Il secondo approccio adottato in questo lavoro di tesi ha preso in considerazione il contenuto pseudo totale degli stessi metalli bivalenti e il loro confronto con i valori tipici di fondo naturale del Mar Adriatico e con i valori guida di riferimento internazionale (Threshold Effect Level, TEL e Probable Effect Level, PEL), al fine di valutare lo stato di qualità dei sedimenti della zona di indagine, e di effettuare uno screening per individuare eventuali situazioni di rischio per gli organismi bentonici.

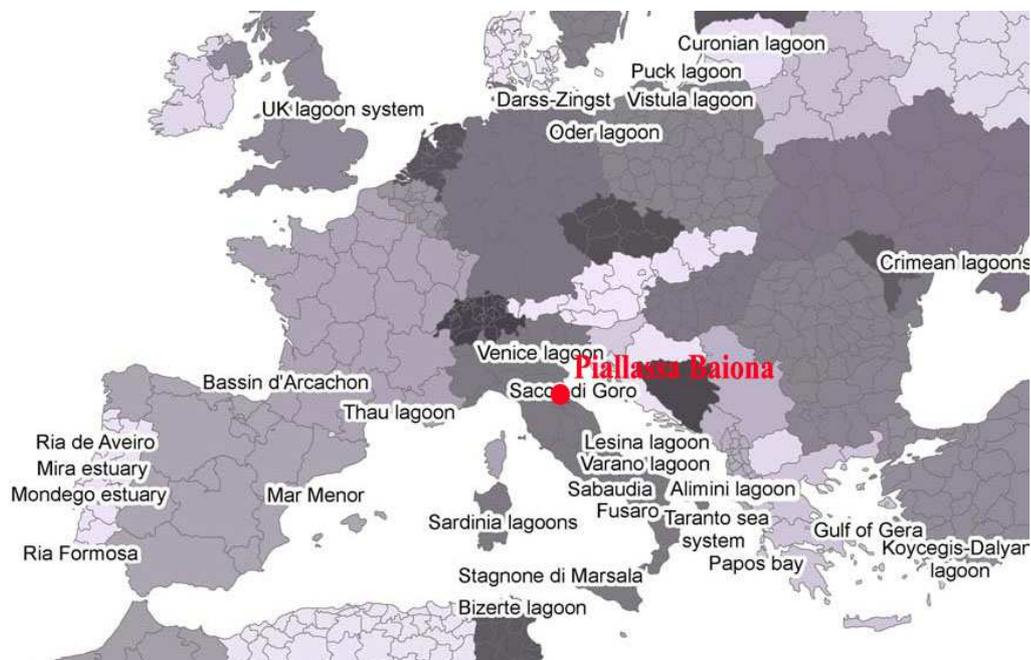
La maggior parte degli studi pubblicati propone la determinazione del contenuto totale dei metalli presenti nei sedimenti al fine di valutare il rischio che si presentino effetti negativi nei confronti del biota acquatico, senza considerare il fatto che questi metalli possono essere legati alla matrice stessa del sedimento, quindi essere sostanzialmente poco o nulla biodisponibili.

Il terzo approccio ha preso in considerazione l'influenza del gradiente naturale terra-mare tipico delle zone di transizione, e del gradiente antropico legato alla vicinanza dell'area industriale alla Pialassa Baiona, sulla distribuzione spaziale dei metalli oggetto di questo studio.

## 1. INTRODUZIONE

### 1.1 Le lagune costiere

Sono corpi idrici salmastri o marini separati dal mare da una barriera di isole, scogliere o banchi di sabbia e collegati, almeno ad intermittenza, con il mare aperto da uno o più insenature di marea (Phleger, 1969; Colombo, 1977; Gonenc e Wolflin, 2004). Le barriere possono quindi essere parzialmente chiuse, a seconda dell'entità del tratto di terra emersa che impedisce lo scambio tra il bacino e il mare. Solitamente si originano nelle coste pianeggianti e sono molto più lunghe che larghe. Le lagune costiere occupano circa il 13% delle aree costiere in tutto il mondo di cui il 5,3 % in Europa, e sono presenti in tutti i continenti tranne che in Antartide (**Figura 1**). Nella regione Mediterranea sono state studiate dal punto di vista idrologico ed ecologico più di 50 lagune; solo in Grecia risultano presenti più di 40 lagune utilizzate per l'acquacoltura, mentre 26 lagune costiere sono state oggetto di studio in Italia (Sabetta et al., 2007).



**Figura 1** Rappresentazione di alcune lagune presenti nel nostro territorio e negli stati limitrofi (Modificata da Razinkovas et al., 2008).

Le lagune costiere sono un eccezionale patrimonio ecologico, ricreativo e di alto valore economico. Esse forniscono habitat diversi (sedimenti, zone umide, vegetazione acquatica) che fungono da rifugio e forniscono alimentazione a numerosi organismi marini e terrestri. A parte il loro valore per l'attività di pesca, sono utilizzate dagli esseri umani per l'acquacoltura (attività che condiziona notevolmente la qualità delle acque nelle lagune), per i trasporti costieri e per la naturale capacità bio-depurativa delle acque.

### **1.1.1 Fattori di stress**

La dimensione e la configurazione delle insenature di marea, lo sviluppo di bacini confinanti, la quantità di input di acqua dolce, la profondità dell'acqua e le condizioni del vento, sono fattori che possono influire notevolmente sui processi fisico-chimici che si verificano all'interno del corpo lagunare (Alongi, 1998). Sono habitat molto sensibili alle variazioni meteorologiche, in particolar modo alla temperatura dell'aria in quanto sono caratterizzate da una bassa profondità (Eisma, 1998). Le lagune costiere sono estremamente sensibili anche alle attività umane e sono tra gli ecosistemi più fortemente influenzati della Terra. Tra i fattori antropici, importanti variazioni possono essere indotte dalla costruzione di dighe, dalla bonifica delle terre, dal dragaggio dei canali, scarico di reflui industriali e civili. Inoltre, la rapida crescita della popolazione e il forte ed eccessivo sviluppo delle zone costiere costituiscono un ulteriore fattore di stress (Vitousek et al., 1997). La crescita demografica intensificatasi nelle zone costiere e lo sviluppo di nuove infrastrutture ha aumentato la quantità in ingresso di fonti non puntuali di inquinamento nelle acque lagunari. Problemi inerenti all'alterazione della qualità delle acque sono riconducibili allo sviluppo dello spartiacque costiero (ovvero dalla modifica dell'uso del suolo, della sua copertura), da fonti puntuali di immissione di inquinanti, deposizione atmosferica, fuoriuscite di petrolio, emissioni dal serbatoio igienico-sanitario delle barche e dragaggio (Stanhope, et al., 2009).

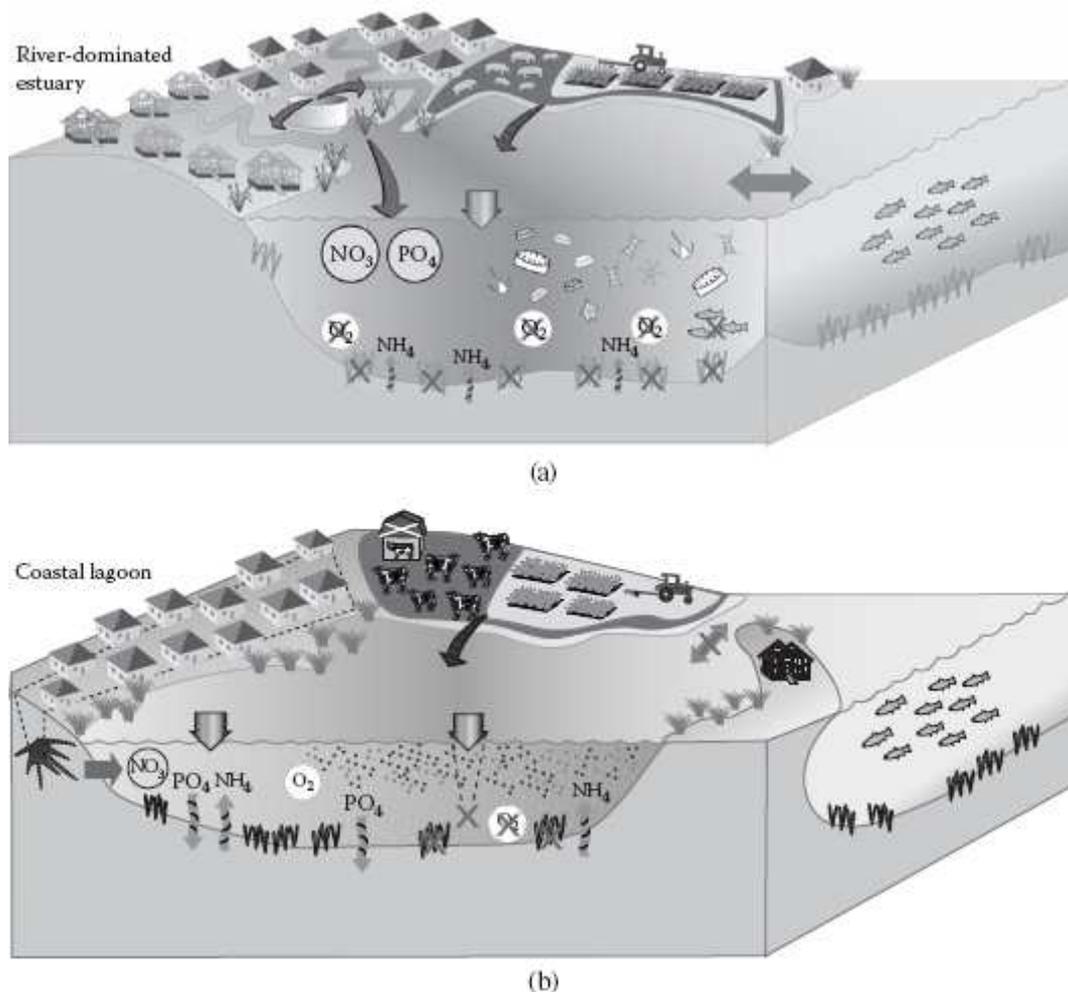
I fattori di stress di origine antropica sono distinti in quelli che degradano l'habitat, quelli che compromettono la qualità delle acque e quelli che alterano le comunità biotiche. Quelli che degradano gli habitat sono fattori prettamente di origine fisica (dragaggio, modifica della costa, bonifica delle aree umide). La qualità delle acque è invece alterata da fattori prevalentemente chimici e biologici (arricchimento in nutrienti, carico di carbonio organico, agenti patogeni, metalli pesanti). I fattori di stress biotici comprendono invece variazioni significative delle componenti biologiche causate dalle attività umane (pesca eccessiva, introduzione di specie invasive).

Per quanto concerne i fattori di stress di tipo naturale, come è già stato accennato, le lagune sono molto sensibili ai cambiamenti climatici, alle variazioni del livello dei mari, alla siccità e agli eventi meteorologici estremi. Questi fattori aumentano l'erosione costiera, determinando inondazioni e perdita di zone umide. Risposte ecologiche a questi fattori di stress riguardano alterazioni sull'abbondanza, la distribuzione e la diversità delle popolazioni animali e vegetali. Le comunità biotiche lagunari sono perciò specie che si devono adattare al forte stress naturale associato alla forte variabilità delle condizioni fisico-chimiche, dei flussi stagionali e annuali della temperatura, della salinità, degli input di materia organica, della torbidità, dell'afflusso di acqua dolce e dalla copertura di ghiaccio invernale.

I sedimenti possono accumularsi grazie ai fiumi che drenano l'area, ad altri habitat che si affacciano sul bacino e da processi interni (produzione di carbonio organico, precipitazione chimica, erosione e risospensione dei sedimenti più vecchi). Inoltre sono trasportati nei sistemi lagunari dal mare durante gli episodi di alta marea.

La maggior parte dei nutrienti presenti nelle lagune derivano dai fiumi; possono inoltre essere rilasciati dal sedimento nelle acque sovrastanti per mediazione batterica, risospensione delle acque interstiziali, detriti organici e particolato inorganico (Thornton et al., 1995).

Le fioriture fitoplanctoniche lagunari sono dominate da specie algali che hanno generalmente una dimensione inferiore ai 3  $\mu\text{m}$ . Come tutte le fioriture algali è necessario che dispongano di una fonte di nutrienti per sostenere la biomassa che viene prodotta. La composizione dei nutrienti all'interno delle lagune costiere è differente da quella caratteristica dei fiumi che ne dominano il sistema (**Figura 2**). Generalmente i sistemi lagunari hanno basse concentrazioni di  $\text{NO}_3^-$  che invece sono maggiormente presenti negli estuari dei fiumi; allo stesso tempo accumulano invece una maggior concentrazione di  $\text{NH}_4^+$  (Boyer et al., 1999; Glibert et al., 2007.)



**Figura 2** Sintesi schematica della differenza tra le lagune costiere ed estuari, in base alla sorgente dei nutrienti, flussi e fioriture algali. Negli estuari (a), la maggior quantità di nutrienti deriva da input fluviali. L'azoto è prevalentemente presente come  $\text{NO}_3^-$ . Le principali fonti di nutrienti sono le acque reflue della popolazione e le attività agricole e o animali. Le specie maggiormente presenti sono le diatomee. Nelle lagune costiere (b), le principali fonti di nutrienti provengono da sorgenti non puntuali che possono includere il deflusso delle acque derivanti dalle operazioni agricole e l'ingresso di liquami non trattati. L'azoto è maggiormente presente come  $\text{NH}_4^+$  e urea. Il fitoplancton è costituito da cellule molto piccole (Glibert et al., 2010).

### 1.1.2 L'eutrofizzazione

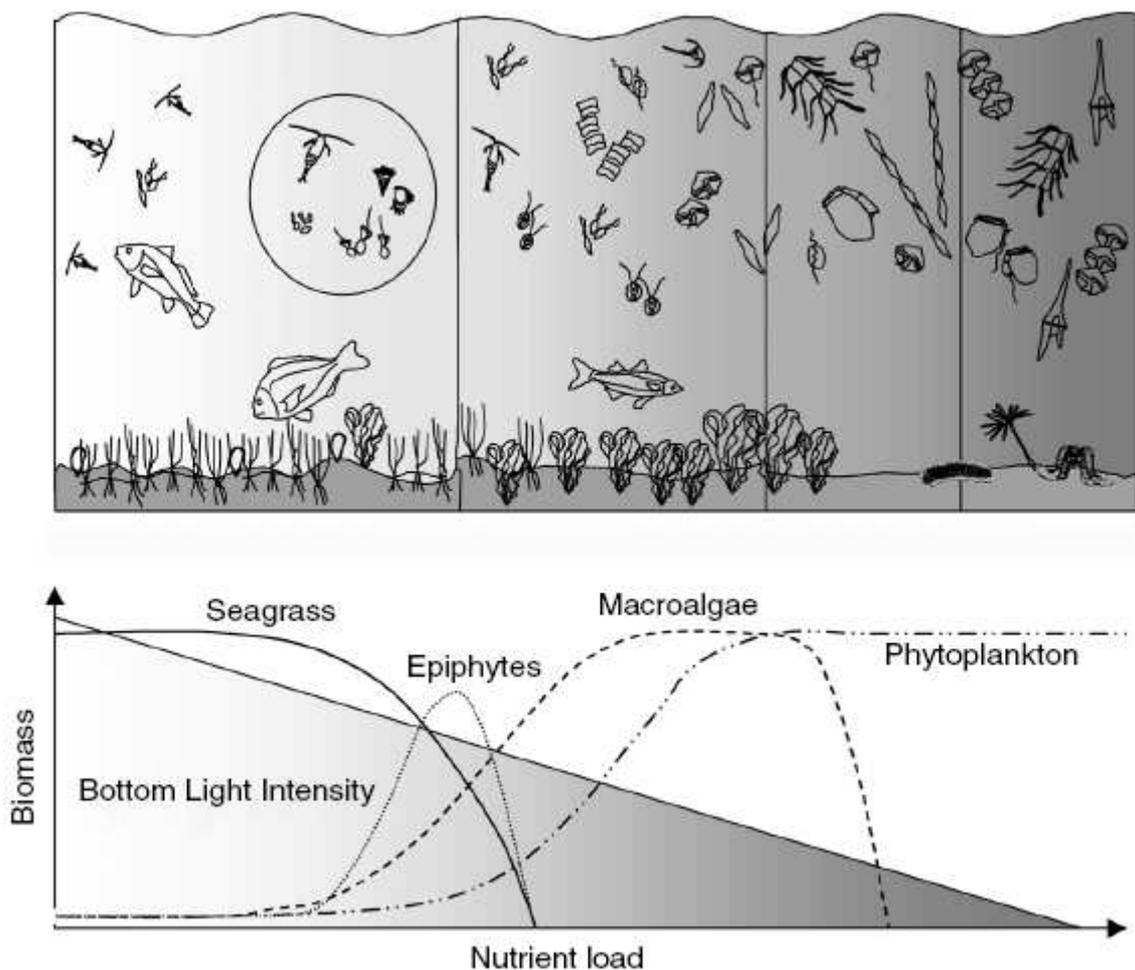
L'eutrofizzazione è un processo che comporta un aumento dell'apporto di nutrienti inorganici all'ecosistema acquatico che favorisce lo sviluppo dei vegetali e quindi la produzione primaria di biomassa. Oltre all'apporto di nutrienti, anche le alterazioni della torbidità dell'acqua (penetrazione della luce necessaria per la fotosintesi) e i cambiamenti nelle condizioni idrauliche che comportano una modifica al tempo di ricambio delle acque, sono fattori che promuovono dei cambiamenti sulla composizione delle comunità vegetali dominanti. Un esempio di sequenza nella variazione dei gruppi più importanti di alghe è stato studiato da Harlin (1995); la sequenza con la quale si succedono questi cambiamenti sembra avvenire in maniera graduale, ma con improvvisi cambiamenti circa la vegetazione sommersa (Duarte, 1995). Il consumo di ossigeno derivante dalla decomposizione del materiale organico può indurre periodi di anossia che insieme alla produzione di sostanze tossiche (come il solfuro di idrogeno derivante dalle condizioni anaerobiche) comporta effetti negativi sugli organismi bentonici che vivono sul fondale.

In relazione ai flussi di carbonio organico, gli ambienti lagunari possono essere distinti in: oligotrofici (basso flusso di carbonio organico,  $<100 \text{ g C m}^{-2} \text{ anno}^{-1}$ ), mesotrofici, eutrofici e ipereutrofici (elevato flusso di carbonio organico  $>500 \text{ g C m}^{-2} \text{ anno}^{-1}$ ). In base allo stato di eutrofizzazione caratterizzante una laguna, avremo differenti tipi di vegetazione e fauna presenti (**Figura 3**).

Lo stato oligotrofico inibisce la crescita del fitoplancton comportando un'elevata trasparenza dell'acqua stessa. La luce solare può perciò raggiungere facilmente il fondale senza essere un fattore limitante per la crescita della vegetazione bentonica, favorendo lo sviluppo di fanerogame acquatiche (es.: *Ruppia* spp.).

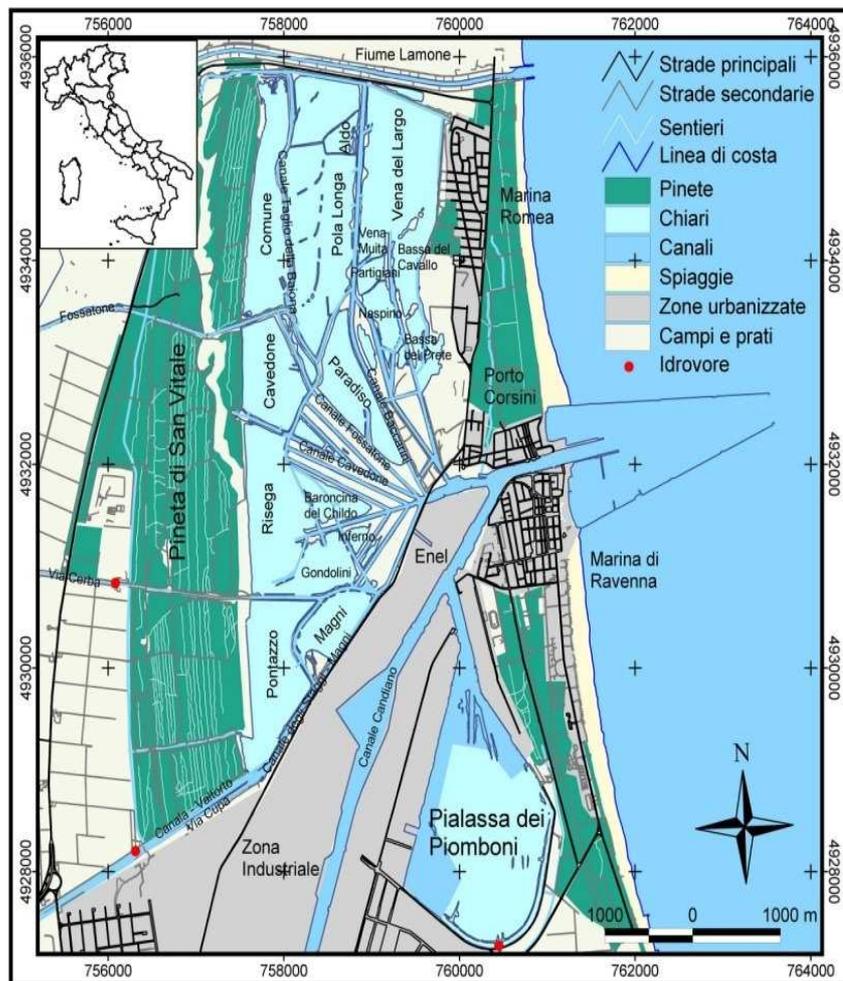
Lo stato mesotrofico ha una concentrazione di nutrienti tali da permettere la crescita delle macroalghe nitrofile (es.: *Ulva* spp. ed *Gracilaria* spp.), insieme al fitoplancton. L'acqua mantiene ancora un'elevata trasparenza.

Nello stato eutrofico l'elevata concentrazione in nutrienti comporta un'elevata presenza di fitoplancton o di macroalghe bentopleurtofiti flottanti (es.: *Ulva* spp.). La maggior presenza di biomassa e di fitoplancton derivante dall'alta quantità di nutrienti, determinano una minor trasparenza delle acque che può limitare la penetrazione della luce fino sul fondo della laguna (Nixon e Pilson, 1983) impedendo così la crescita di vegetazione bentonica. Questo stato diviene ipereutrofico quando la quantità di fitoplancton o macroalghe flottanti è talmente elevata da impedire l'ingresso della luce solare nei strati sottostanti, inibendo così la crescita delle macroalghe.



**Figura 3** La prima figura rappresenta un esempio del possibile cambiamento nell'ecosistema lagunare in relazione al carico di nutrienti: nello stato oligotrofico, la vegetazione acquatica è dominata da alghe e pesci. Per un carico medio di nutrienti (mesotrofico), le macroalghe competono con le alghe e si hanno piccole crescite di fitoplancton. Ad alte quantità di nutrienti, la specie dominante è il fitoplancton che domina la colonna d'acqua. In questo caso, la luce è fortemente bloccata diventando un fattore limitante per le microalghe e per la fauna bentonica. La seconda figura mostra invece l'evoluzione circa l'abbondanza della vegetazione acquatica sommersa, epiteti e del fitoplancton, in relazione al carico di nutrienti e alla quantità di luce che penetra nel fondale (Gamito et al., 2005).

## 1.2 Inquadramento dell'area di studio: la Pialassa Baiona



**Figura 4** Pialassa Baiona.

La Pialassa Baiona (**Figura 4**) è un sistema lagunare, all'interno del comune di Ravenna, formatosi naturalmente in tempi passati (circa 4 secoli fa) e modificato nel tempo da una serie di interventi idraulici attuati sul territorio circostante (Miserocchi et al., 1990). Nel passato occupava una superficie di circa 1360 ettari; attualmente è un'area di 1100 ettari. Tale sistema lagunare è connesso al sistema portuale di Ravenna attraverso il canale Candiano.

Il termine Pialassa deriva probabilmente dal caratteristico sistema dinamico influenzato dai livelli di marea, tipico delle lagune.

La sua formazione è stata resa possibile dalla formazione di nuovi cordoni dunosi che hanno isolato un braccio di mare in maniera progressiva. Nel XII secolo l'attuale sistema delle

Pialasse (Baiona e Piomboni) non esisteva: al suo posto vi era un'ampia insenatura marina, delimitata dalla Pineta di S. Vitale (Ascani et al., 2003; Gabbianelli et al., 2003).

Attualmente la Baiona è delimitata a Nord dal fiume Lamone, ad Ovest dalla Pineta di S. Vitale, ad Est dalla Pineta di Marina Romea e a Sud comunica con il mare grazie al canale Candiano.

La laguna è costituita da una serie di aree sommerse, dette chiari, con profondità media inferiore al metro, collegati tra loro da una serie di canali artificiali che comunicano con il mare attraverso il Candiano (Martinelli et al., 2003).

Il sistema ha subito un forte deterioramento a partire dagli anni '50 per la diminuzione dell'immissione di acqua dolce, conseguente all'inalveamento del fiume Lamone e allo sviluppo industriale della città, nonché l'evolversi dell'agricoltura locale che ha determinato un incremento del carico degli inquinanti immessi nella zona.

Attualmente, le attività produttive che gravitano direttamente sulla Pialassa sono:

- Depositi petroliferi costieri (PIR, PETRA);
- Produzione petrolifera (Alma Petroli SpA);
- Produzione oli vegetali (Eridania SpA);
- Industrie di lavorazione dei metalli (Marcegaglia);
- Produzioni chimiche (Degussa SpA, Endura SpA);
- Produzioni di energia (Enel, Enipower SpA);
- Cementifici (cementificio Barbetti).

L'area in esame presenta attualmente diverse problematiche di carattere ambientale dovute dalla presenza di processi eutrofici e dall'accumulo di metalli pesanti, soprattutto mercurio (Hg) (Ui, 1970; Anconelli et al., 1980). Nel dettaglio, dal 1957 al 1976, ingenti quantità di Hg sono state scaricate da un'industria petrolchimica nel canale di Via Cupa, che confluisce nelle Valli

Ravennati. Tale impianto, basato sulla produzione dell'acetaldeide, utilizzava come catalizzatore il solfato di mercurico ( $\text{Hg}^{++}$ ) che durante la reazione si trasformava in mercurio metallico ( $\text{Hg}^0$ ). Nel 1976 è però entrato in funzione un impianto di demercurizzazione (in ottemperanza della legge Merli) delle acque di scarico che ha determinato un abbassamento delle concentrazioni di Hg immesso. Alti valori di concentrazione furono ritrovati anche per gli altri metalli pesanti come lo Zn, il Cu e Pb (Miserocchi et al., 1990). Precedenti analisi sulla Pialassa Baiona hanno rilevato la presenza di altri tipi di inquinanti, quali gli idrocarburi policiclici aromatici (PAH) (Fabbri et al., 2003).

### **1.3 Vincoli normativi**

Il quadro normativo presenta una notevole complessità dovuta dalla pluralità di sistemi di tutela vigenti nel territorio stesso, i quali devono essere coerenti e coordinati tra loro (Garzia G., 2003; Vistoli A., 2003).

Da un punto di vista generale, il punto di riferimento normativo è costituito dal Piano Territoriale Paesistico Regionale (PTPR) che costituisce parte tematica del Piano Territoriale Regionale (PTR); il suo scopo è imporre delle regole e degli obiettivi per la conservazione delle diverse tipologie di beni di interesse paesistico esistenti a livello regionale.

Il PTPR della regione Emilia Romagna ha trovato attuazione con il Piano Territoriale di Coordinamento Provinciale della Provincia di Ravenna (PTCP) che include la Baiona nell'ambito delle zone di tutela naturalistica di pianura e collina.

In relazione a questa, sono state stabilite delle prescrizioni vincolanti e delle direttive; le prime indicano le specifiche attività consentite nel sito e prevedono il divieto di svolgere attività che possano danneggiare lo stesso.

La Baiona è poi inclusa all'interno del vigente Piano Regolatore Generale a livello urbanistico e paesistico che include il sito nell'ambito delle zone L (di tutela e vincolo); in tali zone è

vietata ogni opera che, anche indirettamente, modifichi in maniera degenerativa la qualità ecologica e le caratteristiche vegetazionali e faunistiche dell'ambiente. La Baiona rientra precisamente nelle L3 (zone umide: pialasse, valli, paludi) per le quali si devono salvaguardare gli equilibri idrogeologici. Questo comporta il divieto di costruzione di opere di urbanizzazione, di bonifiche, di reinterro, di scavo di nuovi canali e realizzazione di nuove arginature.

La Pialassa Baiona è inclusa all'interno del piano territoriale di stazione "Pineta di San Vitale e pialasse di Ravenna" del Parco del Delta del Po che la inquadra come una zona D1 (pre-parco, salvaguardia ambientale); è inoltre stata inclusa tra le zone umide d'importanza internazionale secondo quanto previsto dalla convenzione Ramsar.

Il sito è ulteriormente tutelato in quanto rientra tra le zone di protezione speciale (ZPS. Direttiva 79/409/CEE) e tra i siti di interesse comunitario (SIC. Direttiva 92/43/CEE). Tali direttive sono state recepite con il d.m. 3 aprile 2000.

Inoltre, il Decreto Legislativo 152/99 impone dei limiti da rispettare circa le concentrazioni degli inquinanti nelle acque di mare, di laguna e dolci. Tale decreto definisce prioritari alcuni inquinanti, tra i quali anche alcuni metalli pesanti oggetto di questo studio, come il Ni, il Cd e il Pb. Questo Decreto definisce inoltre le modalità di monitoraggio delle acque e la valutazione del loro stato ecologico. Secondo tale Decreto, la Pialassa Baiona è inoltre stata classificata come "area sensibile": questo comporta ulteriori misure di controllo.

Il Decreto Legislativo 372/1999 ha comportato l'attuazione della Direttiva 96/61/CE relativa alla prevenzione e riduzione integrate dell'inquinamento. Tale Decreto disciplina la prevenzione e la riduzione dell'inquinamento proveniente da attività quali quelle energetiche (impianti di combustione, raffinerie di petrolio e di gas, cokerie ed impianti di gassificazione e liquefazione del carbone), impianti utilizzati per la ricerca e lo sviluppo di nuovi prodotti, attività di produzione e trasformazione dei metalli, industria di prodotti minerali, industrie chimiche, gestione dei rifiuti... Prevede

misure intese ad evitare o a ridurre le emissioni delle suddette attività nell'aria, nell'acqua e nel suolo.

La Pialassa Baiona è inoltre interessata da attività come la pesca e la caccia. È infatti consentita una certa attività venatoria che deve coesistere con le esigenze della salvaguardia ambientale previste per questo habitat. Ai cittadini del comune di Ravenna è riconosciuto il diritto di uso civico di pesca nell'ambito del territorio comunale ed in particolare nella Pialassa Baiona; per poter accedere a tale diritto è però necessario iscriversi in un apposito "registro degli aventi diritto" così come specificato nel regolamento vigente ed essere perciò muniti delle licenze e delle autorizzazioni alla pesca previste dalla normativa vigente. La pesca può perciò essere esercitata nei modi e nei periodi previsti dalla legge, inoltre può essere temporaneamente sospesa o limitata per motivi igienico sanitari, di tutela ambientale o per consentire opere ed interventi specifici. Esistono dei limiti nei confronti di molte specie, sia per quanto concerne i periodi di cattura, i quantitativi giornalieri e stagionali e la taglia minima di molte specie ittiche (R.R. n. 29/1993).

## 2. I SEDIMENTI

### 2.1 Caratteristiche dei sedimenti

I sedimenti sono una componente importante degli ecosistemi acquatici; in essi possono accumularsi le sostanze tossiche attraverso complessi meccanismi di assorbimento chimico-fisico dipendenti dalla natura del sedimento stesso e dalle proprietà delle sostanze adsorbite. L'analisi dei sedimenti a livello ecotossicologico è iniziata nei primi anni '80. Alcuni studi evidenziarono come numerose aree costiere, fiumi e laghi erano caratterizzati dalla presenza di alte concentrazioni di contaminanti nei sedimenti (Alden et al., 1982; Chapman et al., 1987). I sedimenti contaminati possono quindi recare danni al biota acquatico in quanto fungono da deposito delle sostanze organiche persistenti e dei metalli; gli organismi (in particolare quelli bentonici) sono spesso a contatto con i sedimenti e perciò continuamente esposti ad una certa quantità di contaminanti. Tale esposizione induce effetti tossici sugli stessi (Landis et al., 1994; Di Toro et al., 1990).

I tipi di contaminanti che vengono rinvenuti nei sedimenti sono i metalli pesanti, gli *Endocrine Disrupting Chemicals* (EDC) che comprendono farmaci (fitoestrogeni), pesticidi (organi fosforici, carbammati), plastificanti (ftalati) e sostanze di origine industriale (come i fenoli, i ritardanti di fiamma, metalli pesanti, diossine), composti organici persistenti (POP), bifenili policlorurati (PCB), e gli idrocarburi policiclici aromatici (IPA).

#### 2.1.1 I metalli: speciazione e biodisponibilità

Varie definizioni sono state date per il termine "metalli pesanti": in chimica si definiscono con questo termine quegli elementi chimici che hanno una densità superiore ai  $5 \text{ g cm}^{-3}$ , in relazione ad un elevato peso atomico; caratterizzati da diversi stati di ossidazione, bassa solubilità nelle forme idrate, tendenza a formare complessi e a legarsi con i solfuri per formare i relativi solfuri metallici; in ecotossicologia il termine viene utilizzato per indicare quegli elementi ad alto

peso atomico che possono provocare, anche a basse concentrazioni, effetti negativi sugli organismi acquatici.

I metalli sono distinguibili in tre classi: quelli che non hanno alcuna relazione con i processi fisiologici (come il cromo e l'argento), quelli che hanno un comportamento simile ad un elemento indispensabile per l'organismo (come lo stronzio) e che possono sostituirsi ad altri elementi come il calcio, e quelli che svolgono un importante ruolo fisiologico (come il manganese, il ferro, lo zinco, ecc.).

In generale i metalli vengono eliminati attraverso i normali processi fisiologici, ma oltre una certa soglia, l'organismo non è più in grado di controllare tali meccanismi di escrezione; ne consegue la possibilità di bioaccumulo dei metalli negli organismi esposti (Vinodhini, 2008).

I metalli pesanti sono considerati tra i principali inquinanti inorganici a causa della loro ampia diffusione e tossicità. Vengono normalmente rilasciati nella biosfera dai vulcani, dalle rocce e dalle attività umane (estrazione di minerali, combustione di combustibili fossili e dallo scarico di effluenti e fanghi di depurazione). Il livello di contaminazione è globale: concentrazioni di metalli pesanti sono state ritrovate ai poli (Bronwyn et al., 2007) come in qualsiasi altra parte del mondo. Considerato che possono essere adsorbiti sul sedimento o accumulati dagli organismi bentonici a livelli tossici, la biodisponibilità e la conseguente tossicità dei metalli sono diventate oggetto di studio in associazione al sedimento (Kemp e Swartz, 1988; Berry et al., 1996). Questi studi hanno evidenziato che la concentrazione dei metalli totali nel sedimento non è predittiva della biodisponibilità e tossicità dei metalli nello stesso che è invece relazionata alla concentrazione dei metalli pesanti disciolti nelle acque interstiziali, le quali dipendono a loro volta dalle concentrazioni dei solfuri labili nel sedimento.

I livelli di fondo naturale dei metalli differiscono a seconda della geologia dell'area d'interesse. In assenza di sorgenti antropiche, i metalli in tracce presenti nel sedimento sono principalmente associati a minerali silicatici e primari (con bassa mobilità), mentre se di origine antropica, la loro mobilità

è maggiore e si trovano associati ad altre componenti come carbonati, ossidi, idrossidi e solfuri (De Andrade Passos et al., 2010).

La forma in cui sono presenti i metalli all'interno del comparto acquatico dipende dalle caratteristiche dell'ambiente stesso; in particolar modo dalla composizione chimica dell'acqua che influenza la speciazione dei metalli in relazione ai valori di pH. La durezza, il contenuto organico, la concentrazione dei cloruri e di ossigeno ne influenzano la biodisponibilità e quindi il loro bioaccumulo nei tessuti degli organismi acquatici.

Possono presentarsi in forma ionica (ovvero disciolti), legati ai complessi organici ed inorganici, oppure al particolato organico ed inorganico.

Diversamente dagli inquinanti organici, quelli metallici non possono essere degradati ma subiscono delle trasformazioni che ne comportano il passaggio di stato da uno stato di ossidazione all'altro, e di conseguenza, da una forma all'altra. Questa trasformazione influisce sulla loro mobilità e disponibilità.

L'immobilizzazione (fenomeno che impedisce lo spostamento del metallo da un comparto all'altro) può avvenire per adsorbimento, scambio ionico, complessazione e precipitazione.

Il maggior problema che si riscontra nella determinazione della loro tossicità negli ambienti acquatici consiste nell'alta variazione della loro biodisponibilità; questa non è direttamente proporzionale alla loro concentrazione ma è influenzata da vari fattori. Tra questi ci sono fattori chimici, fisici e biologici. I fattori fisici e chimici che influiscono sulla biodisponibilità includono i processi di: complessazione da parte di agenti complessanti organici ed inorganici, adsorbimento su materiale particolato, precipitazione e formazione di legami con la matrice insolubile. Tra i fattori biologici si evidenziano la competizione tra i metalli e gli elementi essenziali per gli organismi e i canali di assorbimento degli ioni negli animali (Campbell, 1995). Quindi, la concentrazione dei metalli nei sedimenti non è rappresentativa della loro biodisponibilità e tossicità nei confronti degli organismi acquatici; i composti

dello zolfo giocano un ruolo chiave nel controllo della partizione di alcuni metalli bivalenti nel sedimento (Di toro et al., 1990). L'importanza dei solfuri nel controllo della concentrazione dei metalli nelle acque interstiziali dei sedimenti è ben documentata (Morse e Cornwell, 1987; Davies-Colley et al., 1985. ).

La tossicità è influenzata dall'esistenza di legami chimici tra il sedimento e il metallo; diversi tipi di sedimento possono mostrare tossicità diverse nonostante contengano la stessa quantità di metallo legata alla matrice. Le proprietà che definiscono questo comportamento sono quelle che influenzano la distribuzione di questi elementi tra la fase liquida (acqua interstiziale) e la fase solida (sedimento).

I metalli pesanti considerati più tossici sono il mercurio, il piombo e il cadmio. I loro effetti tossici sugli organismi acquatici bentonici (come gli anfipodi, gli oligocheti, gli insetti e gli echinodermi) sono stati evidenziati in alcuni studi che hanno messo in relazione la quantità di solfuri labili e dei metalli bivalenti nei sedimenti mostrando una correlazione tra i due (Di Toro et al., 1990, 1992; Ankley et al., 1991, 1996). I metalli pesanti più studiati sono il mercurio (Hg), il cromo (Cr), lo zinco (Zn), il nichel (Ni), il piombo (Pb), il cadmio (Cd) e il rame (Cu) soprattutto per quello che riguardano gli effetti tossici e il bioaccumulo negli organismi acquatici (Di Toro, 1990).

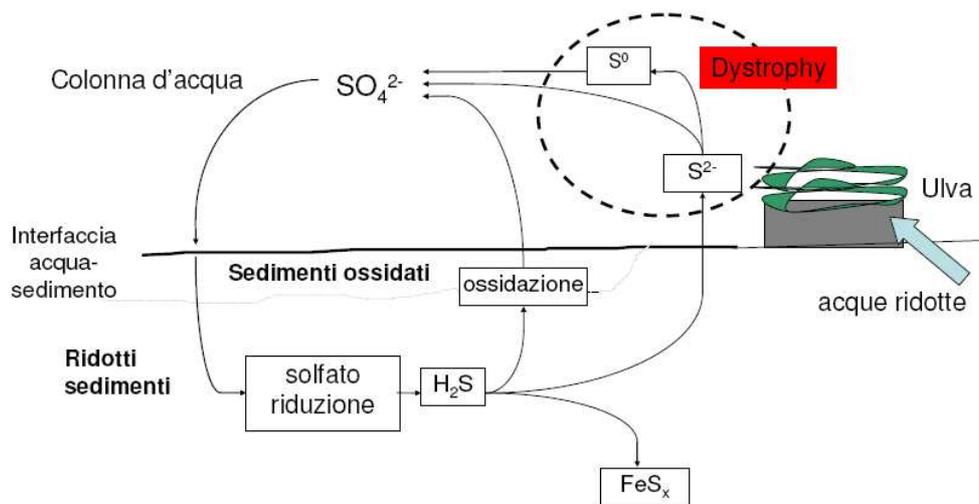
Le metodiche in uso per la determinazione dei metalli pesanti nei sedimenti prevedono la digestione totale e pseudo totale del sedimento mediante una mineralizzazione con acidi forti, a caldo, in un sistema chiuso, a microonde. L'efficienza di estrazione è legata alla miscela di acidi utilizzati per la mineralizzazione, alla scelta del programma di digestione (durata e potenza del digestore a microonde), nonché alla composizione e quantità di campione impiegato. Le miscele di digestione maggiormente utilizzate includono: HCl, HNO<sub>3</sub>, HF, HClO<sub>4</sub> ed eventualmente H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. L'acido nitrico a temperatura ambiente decompone la sostanza organica, mentre alle alte temperature riesce a mineralizzare quasi completamente il campione di sedimento. L'acido fluoridrico

è l'unico acido in grado di dissolvere i silicati, consentendo il rilascio di tutti i metalli, inclusi quelli associati come Al, Fe e Li. Il perossido di idrogeno, in combinazione con l'acido nitrico, risulta molto efficace nella decomposizione della materia organica.

Altre tecniche di estrazione prevedono l'impiego di altri estraenti quali HCl diluito, acido acetico. Tra queste tecniche emerge l'estrazione sequenziale, che consiste nell'impiego di una serie di estraenti in step successivi al fine di determinare la frazione dei metalli legati agli ossidi di ferro e manganese, ai solfuri e alla materia organica.

### **2.1.2 Introduzione ai composti dello zolfo**

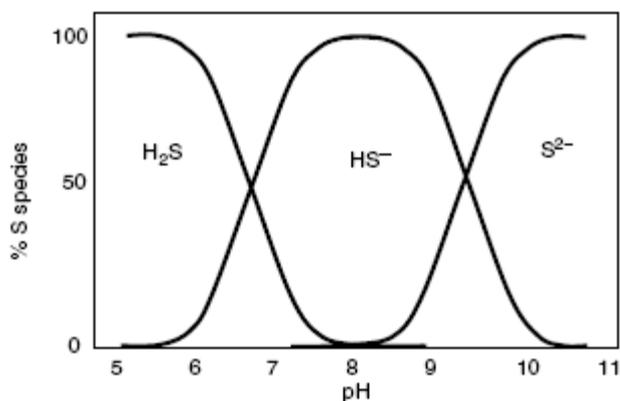
Lo zolfo è un elemento ampiamente diffuso e distribuito su tutta la superficie terrestre. È uno dei 10 elementi più abbondanti nei materiali biologici ed è essenziale per la vita di tutti gli organismi. Approssimativamente il 90% dello zolfo si trova nei fondali oceanici e nelle rocce sedimentarie; la maggior parte dello zolfo rimanente si trova invece sotto forma di solfato nelle acque oceaniche. In un contesto globale, solo una piccola quantità di zolfo è presente nel suolo, nella materia vivente e nell'atmosfera. È caratterizzato da un ciclo continuo che comprende tutti i comparti sopra citati attraverso reazioni di ossido-riduzione. A livello dei sedimenti, il ciclo è mostrato in **Figura 5**. Concettualmente, le principali caratteristiche del ciclo dello zolfo, sono le stesse per tutte le aree umide. È coinvolto in molti processi biogeochimici tra i quali la riduzione del solfato, la formazione della pirite, il ciclo dei metalli e il trasporto di energia.



**Figura 5** Ciclo dello zolfo (Giordani et al., 2008)

Nelle zone umide è presente sia nella forma organica (animali e tessuto vegetale microbico) che inorganica (pirite, ferro e idrogeno solfuro, monosolfuro e solfato). Nella forma organica è presente sia come estere che legato al carbonio (come peptidi, proteine e amminoacidi). Lo zolfo inorganico è suddiviso in 3 categorie: zolfo inorganico ossidato (solfato, solfito e tiosolfato), zolfo inorganico ridotto (zolfo elementare e solfuro) e composti dello zolfo gassosi (acido solfidrico, anidride solforosa).

La forma di zolfo presente nel suolo e nei sedimenti dipende dal pH (**Figura 6**).



**Figura 6** Effetto del pH sulla speciazione dello zolfo. Si può notare come la specie  $S^{2-}$  sia quella che poco interessa i sistemi acquatici (Reddy e DeLaune, 2008).

Lo zolfo è presente nei suoli e nei sedimenti delle zone umide in molti stati (**Figura 7**) di ossidazione compresi tra +6 e -2 e può essere presente in forma gassosa, solubile o nella forma solida. Lo stato di ossidazione più comune nelle aree umide sono -2 (solfidrico), -2 (solfuro), 0 (zolfo elementare) e +6 (solfato).

#### Oxidation States of Sulfur

Oxidation State	Example	Formula
+6	Sulfate	$\text{SO}_4^{2-}$
+5	Dithionate	$\text{S}_2\text{O}_6^{2-}$
+4	Sulfite	$\text{SO}_3^{2-}$
+4	Disulfite	$\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$
+3	Dithionite	$\text{S}_2\text{O}_4^{2-}$
+2	Thiosulfate	$\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$
0	Sulfur (elemental)	S
-2	Sulfide ( $\text{H}_2\text{S}$ )	$\text{S}^{2-}$
-2	Organic S (R-SH)	$\text{S}^{2-}$

**Figura 7** Stati di ossidazione dello zolfo (Reddy e DeLaune, 2008).

In queste aree lo zolfo gioca un ruolo chiave, infatti costituisce un elemento essenziale per tutte le piante e per gli organismi nei processi di sintesi cellulare. Batteri, ciano batteri, funghi, alghe eucariote e piante vascolari, assimilano il solfato e gli elementi dello zolfo dall'ambiente come nutrienti. Questi composti vengono ridotti all'interno delle cellule e trasformati in amminoacidi che contengono zolfo o in altri composti organici anch'essi contenenti zolfo. La frazione di zolfo totale associata ai composti organici nei sedimenti più recenti si aggira attorno al 10-20% (Kaplan et al., 1963) mentre nei sedimenti meno recenti si arriva a percentuali molto maggiori; per esempio, percentuali pari al 90% di zolfo sono state ritrovate in sedimenti risalenti al Mesozoico (Mongenot et al., 1996., Baudin et al., 1999).

Come risultato della riduzione del solfato mediata dai batteri e della decomposizione del materiale organico, grandi quantità di zolfo ridotto in forma gassosa vengono emessi in atmosfera annualmente dalle aree umide. Le emissioni di zolfo in atmosfera contribuiscono al fenomeno delle piogge acide.

Le zone umide fungono da riserve per i nutrienti, metalli e sedimenti. Hanno un'elevata capacità di sequestrare carbonio organico e con esso anche i composti dello zolfo legati ad esso; ecco perché grandi quantità di composti dello zolfo vengono ritrovati nelle aree umide (Reddy e DeLaune, 2008).

## 2.2 Acid Volatile Sulfide (AVS)

L'immagazzinamento dello zolfo nel sedimento (ad esempio come pirite) è una delle maggiori forme di sequestro dello stesso dal ciclo biogeochimico dello zolfo e comporta degli impatti nei cicli del carbonio e dell'ossigeno ad esso legati. I solfuri volatili che vengono prodotti dalla reazione suddetta, sono detti "Acid Volatile Sulfide" (AVS) e vengono prodotti dai materiali sedimentari che rilasciano zolfo a contatto con un acido (come HCl). Il ciclo del carbonio, dell'ossigeno e dello zolfo sono strettamente connessi tra loro; in particolar modo è la rimozione dello zolfo dal sistema oceanico e atmosferico, nonché il suo intrappolamento nei sedimenti, che controlla tale relazione.

Molto del  $S^{2-}$  presente nel sedimento è prodotto dai processi di riduzione da parte dei procarioti. Usando dei batteri in grado di ridurre lo zolfo (*Desulfovibrio desulfuricans*) sono state sintetizzate la pirite, la marcasite, la greigite e la mackinawite (Rickard, 1969); è risultato non esistere differenza tra i solfuri di ferro prodotti dai batteri e quelli originati inorganicamente. In pratica i batteri hanno generato il solfuro di idrogeno necessario alla formazione dei minerali. Nelle cellule di questi batteri sono state identificate delle particella di FeS (Jones et al., 1976) molto simili alle nanoparticelle di mackinawite (Wolthers et al., 2003).

La produzione biologica dei composti dello zolfo include composti con  $S^{2-}$  prodotti dai batteri sopra citati, ma anche di  $S^0$  associato alla presenza di batteri sulfurei come *Beggiatoa* spp., *Thioploca* spp. e *Thiomargarita* spp. Altre reazioni tra  $S^{2-}$  e  $S^0$  portano alla formazione di specie intermedie, detti polisolfuri (Brouwer e Murphy, 1995).

I solfuri derivanti dai sedimenti sono inoltre prodotti da processi di diagenesi del carbonio organico particolato (rappresentato come  $\text{CH}_2\text{O}$ ) con il solfato che funge da accettore di elettroni:



A seguito si avrà la precipitazione del solfuro di ferro secondo la reazione:



La maggior parte dello zolfo presente nei sedimenti si trova nella forma di monosolfuro e bisolfuro di ferro (che conferiscono la tipica colorazione scura al sedimento anossico); queste sono le forme più reattive. I solfuri vengono solitamente classificati in tre classi: la frazione più labile (AVS) associata agli ioni di ferro e manganese (monosolfuri) e che include la mackinawite, la frazione più resistente dei minerali sulfurei (non estraibili con le estrazioni previste per gli AVS) come la pirite e la frazione dei solfuri associata ai composti organici (che costituiscono la materia organica del sedimento).

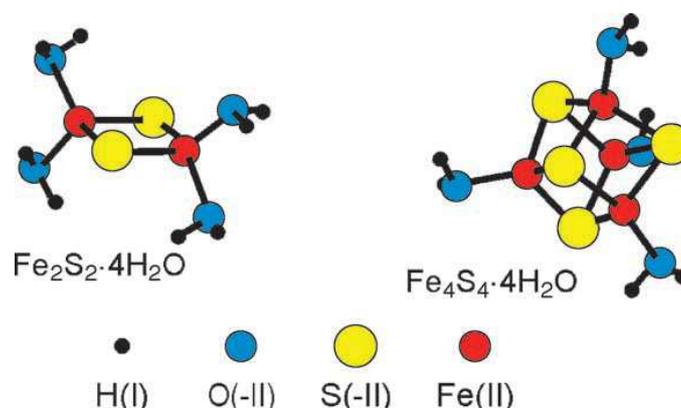
Il monosolfuro di ferro è in equilibrio con la fase acquosa, secondo l'ultima reazione citata.

Sono state individuate diverse metodiche per l'estrazione dei solfuri della specie amorfa (Cornwell e Morse, 1987) e una concentrazione tra 1 M e 6 M di HCl è sufficiente a complessare e dissolvere completamente il solfuro di ferro amorfo, senza rilasciare quello proveniente dalla pirite.

Sorgenti di formazione per gli AVS possono essere i cluster, definiti come complessi multinucleari (caratterizzati dal legame metallo-metallo) che possono svilupparsi e diventare un centro di nucleazione per la prima fase condensata. Nei cluster acquosi di FeS, un numero indeterminato di molecole di FeS sono legate direttamente alle molecole di acqua, come osservato nelle acque di lago (Buffle et al., 1988). I cluster di FeS costituiscono un'importante frazione degli AVS in alcune acque naturali e sedimenti, includendo laghi (Davison, 1980; Davison e Heaney,

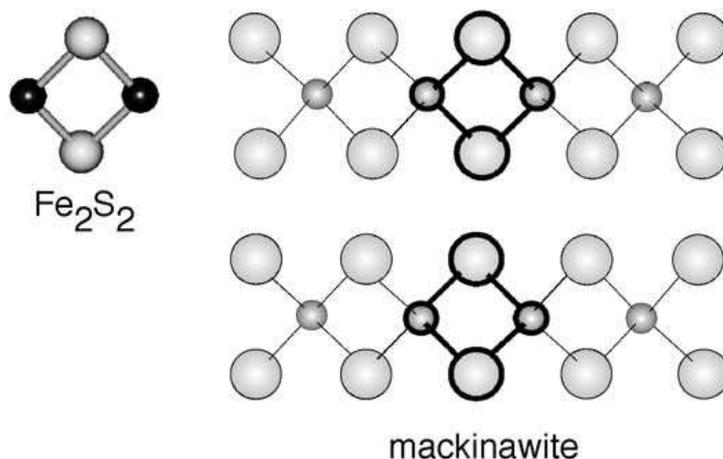
1980; Luther et al., 2003), acque di fiume (Rosan et al., 2000), zone umide (Luther et al., 2001a), sedimenti estuarini (Rickard et al., 1999), sedimenti marini (Luther et al., 1998, 1999, 2001a) e zone idrotermali nei fondali oceanici (Luther et al., 2001b).

La stechiometria dei cluster varia in un range da  $\text{Fe}_2\text{S}_2$  a  $\text{Fe}_{150}\text{S}_{150}$ . La **Figura 8** mostra un esempio di cluster.



**Figura 8** Modello molecolare in fase acquosa di due cluster ( $\text{Fe}_2\text{S}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  e  $\text{Fe}_4\text{S}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ) (Rickard e Morse, 2005).

Le strutture di questi cluster sono analoghe a quelli di FeS costituenti le proteine, mentre la struttura di  $\text{Fe}_2\text{S}_2$  è simile alla struttura di base della mackinawite la quale costituisce la prima fase condensata nel sistema (Wolthers et al., 2003). Questa omologia tra le due strutture (**Figura 9**) suggerisce che la formazione della prima fase condensata in soluzione dipende dalla struttura dei cluster. I cluster acquosi di FeS sono in continua evoluzione stechiometrica: è probabile che all'interno di questa evoluzione vi siano delle stechiometrie più stabili che portano alla formazione della fase solida.



**Figura 9** Omologia tra la struttura del cluster acquoso di  $\text{Fe}_2\text{S}_2$  e la mackinawite. Similitudini tra le strutture di cluster acquose e quelle della prima fase condensata sono state trovate anche nel Cu-S e Zn-S; questo ha portato alla teoria che la prima fase condensata è controllata dalla struttura dei cluster in soluzione (Rickard e Morse, 2005).

In conclusione le specie più importanti (in termini di AVS) disciolte nelle acque sono  $\text{HS}^-$ ,  $\text{H}_2\text{S}$ , nonché i cluster acquosi di FeS.

La Mackinawite (monosolfuro di ferro) si presume sia il maggior minerale costituente gli AVS ed è la prima fase condensata (come nanoparticolato) che precipita in soluzione acquosa per reazione tra  $\text{Fe}^{2+}$  e  $\text{S}^{2-}$ . La struttura tipica di questo minerale è di tipo tetragonale (Berner, 1962). In essa si ritrovano anche altri metalli come il Co, il Cr, il Cu e il Ni. La mackinawite non è completamente solubile in HCl 1M, ma da una buona resa di estrazione in termini di AVS se trattato con HCl 6M (Rickard e Morse, 2005).

Altro minerale considerato come un costituente degli AVS è la greigite (FeS), divenuto importante per le sue proprietà ferromagnetiche. È l'analogo della magnetite, ma con una struttura a spinello inversa. La struttura di base è di tipo  $\text{AB}_2\text{S}_4$  con  $\text{A} = \text{Fe}^{2+}$  e  $\text{B} = \text{Fe}^{3+}$ ; la formula può perciò essere scritta come  $\text{Fe}^{(\text{II})}\text{Fe}^{(\text{III})}_2\text{S}_4$ . Questa tende poi ad assumere la struttura a spinello inverso, di tipo  $\text{A}(\text{AB})_2\text{S}_4$ .

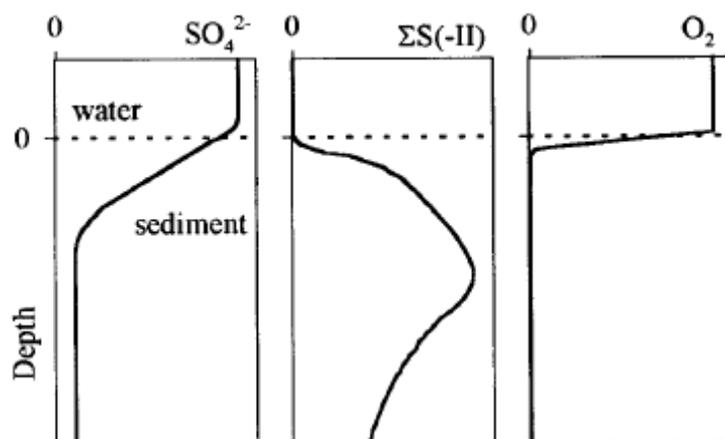
Si presume abbia origine a partire dalla mackinawite attraverso una reazione allo stato solido. La greigite non si scioglie completamente per semplice aggiunta di HCl e insieme alla variabilità e alle conoscenze incerte sulla stechiometria della

sua struttura, non può essere considerata un valido contributo alla formazione degli AVS.

La pirite ( $\text{FeS}_2$ ) è la maggior riserva di zolfo ridotto (S) nel sedimento ma uno studio effettuato sulla produzione degli AVS, ha evidenziato come la pirite non può essere considerata responsabile del rilascio dei solfuri come AVS (Allen et al., 1993); la pirite, presenta infatti una maggior stabilità rispetto agli AVS.

### **2.2.1 Tossicità del solfuro**

Il solfuro prodotto dalla decomposizione anaerobica della materia organica è un comune e abbondante costituente dei sedimenti acquatici. Gli invertebrati bentonici che vivono nel e sul sedimento, sono continuamente esposti a questa sostanza che risulta essere estremamente tossica. La produzione di solfuro avviene maggiormente nei sedimenti contenenti grandi quantità di materia organica che in condizioni anossiche, viene degradata dai batteri presenti. La decomposizione anaerobica inizia da pochi millimetri a qualche centimetro di profondità sotto la superficie del sedimento, in base alla quantità di materia organica presente (Wang e Chapman, 1999). Nei sedimenti marini, la riduzione del solfato da parte dei batteri (come ad esempio i *Desulfovibrio* e i *Desulfotomaculum*) è il processo dominante che produce enormi quantità di solfuro per la decomposizione della materia organica. La figura seguente ( ) mostra il tipico andamento delle quantità di solfato, solfuro e ossigeno con l'aumentare della profondità del sedimento.



**Figura 10** (Wang e Chapman, 1999).

La tossicità del solfuro dipende dal pH; come già detto, in soluzione acquosa lo si può trovare in due forme: come  $\text{H}_2\text{S}$  o come ione  $\text{HS}^-$ . Per valori di pH di circa 8 (tipici dell'acqua di mare), circa il 9% dello zolfo si trova nella forma  $\text{H}_2\text{S}$ , mentre per un pH di circa 6, la percentuale sale al 91%. A pH neutro, le due forme si trovano in ugual concentrazione. La molecola neutra di  $\text{H}_2\text{S}$  può diffondere attraverso le membrane cellulari degli animali, laddove lo ione  $\text{HS}^-$  avrebbe una difficoltà maggiore a causa della carica superficiale della membrana che lo respinge (Visman, 1996; Broderius et al., 1977).

La tossicità del solfuro è stata ben studiata nei pesci e negli organismi che vivono sulla colonna d'acqua (Wang e Chapman, 1999; U.S.EPA, 1986), mentre per quanto riguarda gli studi in merito agli organismi bentonici, non è stato possibile trovare una relazione dose/effetto relativamente al solfuro presente nel sedimento. Il motivo di questa difficoltà consiste nel fatto che l' $\text{H}_2\text{S}$  è volatile e l' $\text{HS}^-$  si ossida facilmente (Millero et al., 1987) perciò risulta difficile mantenere costante la concentrazione di solfuro durante i test di laboratorio.

Gli organismi bentonici che vivono in un ambiente sedimentario ricco in zolfo, mostrano generalmente una resistenza maggiore alla sua tossicità a causa dell'adattamento evolutivo. Allo stesso tempo, organismi bentonici diversi, sottoposti ad ambienti meno estremi, mostrano una tolleranza molto variabile (Theede, 1973; Caldwell, 1975).

Gli organismi che vivono nel sedimento possono adottare una varietà di comportamenti di risposta per evitare l'esposizione prolungata al solfuro; quelli mobili possono migrare verso un sedimento non tossico o comunque meno inquinato, mentre i macroinvertebrati bentonici che vivono all'interno del sedimento anossico, mantengono un microambiente aerobio favorendo la circolazione dell'acqua oppure utilizzano fionni esterni sia per la respirazione sia per evitare la tossicità del solfuro. Visto e considerato che non sempre le due alternative presentate sono fattibili, molti degli organismi bentonici presentano adattamenti evolutivi che gli consentono di tollerare le concentrazioni di solfuro presenti. Esempi di processi di adattamento sono l'esclusione selettiva del solfuro attraverso la respirazione anaerobica, la presenza di enzimi insensibili ad H<sub>2</sub>S, la presenza di pigmenti nel sangue insensibili al solfuro e in grado di trasportare l'ossigeno e i processi di detossificazione dal solfuro (Sims e Moore, 1995; Somero et al., 1989; Bagarinao, 1992; Wang e Chapman, 1999).

In conclusione, la distribuzione degli invertebrati bentonici nei sedimenti contaminati dal solfuro dipende dalla capacità di adattamento degli stessi (Bagarinao, 1992; Miron e Kristensen, 1993). È stato visto che il solfuro nelle acque interstiziali dei sedimenti costituisce un fattore determinante nella distribuzione di tre specie di policheti nereidi (*Alitta virens*, *Hediste diversicolor*, *Neanthes succinea*) in un sedimento estuarino danese (Miron e Kristensen, 1993). *Alitta virens* era confinato nei sedimenti a bassa concentrazione di zolfo (<50 µM), *N. succinea* in quelli ad alte concentrazioni (50-2000 µM) e *H. diversicolor* presentava invece una distribuzione più ampia.

### **2.3 SEM (Simultaneously Extracted Metal)**

I metalli che possono reagire con gli AVS sono quelli il cui K<sub>ps</sub> del solfuro corrispondente è minore rispetto a quello del solfuro di Mn e di Fe (**Figura 11**). Questi metalli sono in grado di sostituirsi al ferro legato al solfuro per formare un composto insolubile considerato "non biodisponibile" per gli organismi bentonici.

MeS	Log Ksp1	Log Ksp2
FeS	-3,64	-22,39
NiS	-9,23	-27,98
ZnS	-9,64	-28,39
CdS	-14,10	-32,85
PbS	-14,67	-33,42
CuS	-22,19	-40,94

**Figura 11** Stabilità dei solfuri metallici che si formano nei sedimenti.

MeS corrisponde al Solfuro di metallo.

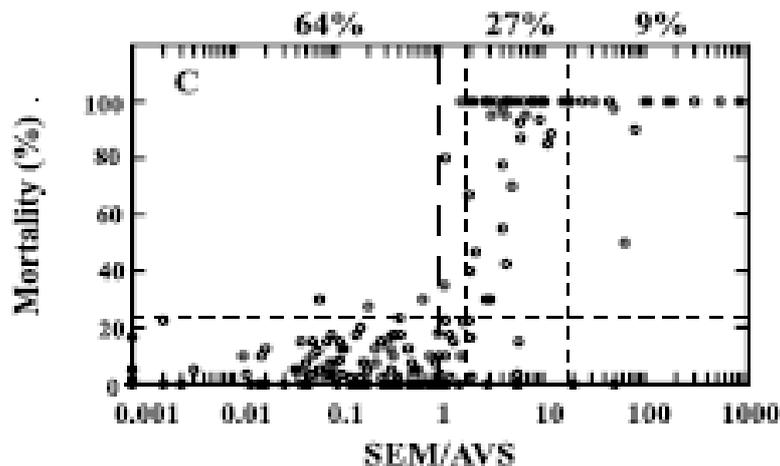
Log Ksp1 è riferito alla reazione  $M^{2+} + HS^- \leftrightarrow MS_{(s)} + H^+$ .

Log Ksp2 è riferito alla reazione  $M^{2+} + S^{2-} \leftrightarrow MS_{(s)}$ . Modificato da (USEPA 2005)

Cd, Cu, Ni, Pb e Zn sono i metalli definiti Simultaneously Extracted Metals (SEM) con la tecnica di estrazione detta AVS-SEM. Non viene preso in considerazione il mercurio in quanto intervengono molti altri fattori nella determinazione della sua potenziale biodisponibilità; nello specifico, tende a legarsi con i gruppi metilici dei composti organici e ad essere prontamente assimilato dagli organismi (Pricha et al., 2008). Inoltre, lo studio di Allen et al. (1993), ha riscontrato che anche a basse concentrazioni di AVS, il Hg non viene estratto con una concentrazione di HCl inferiore a 3M; essendo poi il HgS molto insolubile, la presenza di ioni di mercurio in soluzione tende a riprecipitare velocemente per reazione con il solfuro, ne consegue che le concentrazioni di Hg-SEM sono troppo basse per essere determinate.

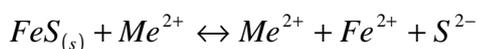
I valori dei prodotti di solubilità (Kps) riportati come logaritmo nella **Figura 11** suggeriscono che l'affinità dei metalli per gli AVS è maggiore per il Cu, quindi per il Pb, il Cd, lo Zn e il Ni (USEPA 2005); di conseguenza, i metalli che tenderanno a passare nell'acqua interstiziale dovrebbero seguire l'ordine inverso. Per esempio, lo zinco dovrebbe spostare l'equilibrio del Ni e convertirlo in un complesso monosolfuro, con la conseguente liberazione del Ni nelle acque interstiziali. Inoltre, un aumento della concentrazione di metalli pesanti caratterizzati da un basso valore di Kps, teoricamente dovrebbe dislocare i metalli caratterizzati da un alto valore di Kps, fino a quel momento non biodisponibili e non tossici, in quanto legati al sedimento (USEPA 2005).

I SEM legati agli AVS sono considerati un valido metodo per valutare la potenziale biodisponibilità dei metalli. Alcuni studi hanno evidenziato che sedimenti con un rapporto molare di  $\Sigma\text{SEM}/\text{AVS} > 1$ , presentano una maggiore tossicità nei confronti degli organismi bentonici rispetto ai sedimenti con rapporti molari  $\text{SEM}/\text{AVS} < 1$  (Pesch et al., 1995; Di Toro et al., 1992; Ankley et al., 1991) (**Figura 12**). La teoria alla base di queste affermazioni si basa sul fatto che per un rapporto molare inferiore a 1 i SEM si trovano per la maggior parte legati al sedimento in forma di solfuro e quindi non sono biodisponibili per gli organismi bentonici; per un rapporto molare maggiore di 1, i SEM si trovano nella fase acquosa e quindi sono biodisponibili per gli organismi bentonici.

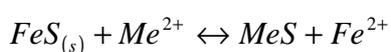


**Figura 12** Rappresentazione della mortalità degli anfipodi in relazione al rapporto SEM/AVS (USEPA, 2005).

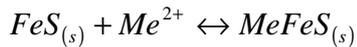
Addizionando un metallo alla fase acquosa, la reazione risultante è:



Aumentando la concentrazione del metallo aumenterà la probabilità di superare il valore del prodotto di solubilità del solfuro di metallo relativo, che inizierà così a formarsi e a precipitare secondo la reazione:



Il ferro precedentemente legato allo zolfo è sostituito dal metallo per formare ferro solubile e il solfuro insolubile del metallo in considerazione. La reazione sopra citata evidenzia la stechiometria uno ad uno del processo. Questo comporta che per uno ione di ferro liberato dal solfuro ne viene sottratto uno di metallo dalle acque interstiziali. Inoltre i metalli possono coprecipitare con FeS (Van den Berg, 1998) secondo la reazione:



Nei sedimenti marini i solfuri controllano la concentrazione dei metalli bivalenti presenti nelle acque interstiziali; essendo i solfuri formati insolubili, ne consegue che le concentrazioni dei relativi metalli nelle acque interstiziali dei sedimenti anossici sono in realtà molto basse. Alcuni studi relativi alle concentrazioni di cadmio nelle acque interstiziali hanno evidenziato che le concentrazioni all'equilibrio di questo elemento erano troppo basse per essere misurate, ma quando le concentrazioni del cadmio superavano quelle del FeS, l'eccesso del metallo non veniva più rimosso per precipitazione e di conseguenza la sua concentrazione nelle acque interstiziali aumentava considerevolmente, divenendo tossico per gli organismi bentonici (Di Toro et al., 1990, 1992; Ankley et al., 1991).

Inoltre, lo studio di Kuang-Chung (2001), ha evidenziato che gli AVS e i SEM non mostrano un andamento costante con la profondità nel sedimento. L'andamento della concentrazione dei SEM e degli AVS cambia considerevolmente in relazione al sito di studio e non segue un andamento prevedibile.

Nell'acqua marina sono i solfuri a controllare la concentrazione dei metalli nell'acqua stessa (Davies-Colley et al., 1985).

### **2.3.1 Tossicità dei SEM**

I metalli possono essere presenti sia nella fase solida che in quella acquosa nella quale si ritrovano sottoforma di cationi (che costituiscono la forma più tossica) o come complessi con altri elementi inorganici o composti organici.

Questi metalli sono disponibili per gli organismi acquatici per ingestione con il cibo, attraverso il trasporto attivo tra le membrane o per diffusione passiva e la capacità di assorbimento dipende dallo stadio di sviluppo dell'organismo in esame, dalla stagione, dal sesso e dal tempo di esposizione (Babukutty e Chacko, 1995; Zarull et al., 1999).

I metalli tossici associati alle aree umide sono presenti sotto varie forme: disciolti, adsorbiti, legati ai carbonati, come ossidi di ferro o manganese, come solfuri, legati alla materia organica e all'interno di strutture cristalline dei minerali. La quantità di materia organica e minerali argillosi, l'acidità (pH) e lo stato di ossidazione-riduzione del sedimento (Eh) sono fattori molto importanti che influenzano la mobilità dei metalli tossici.

Nei sedimenti anossici la formazione dei solfuri metallici, è una delle reazioni più importanti (Di Toro et al., 1990; Zhuang et al., 1994; Caetano et al., 2002).

Il Cd è uno dei metalli la cui abbondanza sulla superficie terrestre è relativamente bassa (minore a 1 ppm) e la sua presenza è riconducibile alla combustione dei prodotti del petrolio, del carbone, del legno, della carta e dei rifiuti organici urbani. Risulta tossico per gli organismi in tutte le forme nelle quali può presentarsi.

Si trova negli ambienti marini come ione bivalente; il complesso Cd-Cl ne rappresenta la forma più abbondante. Questa frazione tende però ad essere adsorbita sulle superfici solide cariche negativamente. La sua presenza nelle acque interstiziali dipende dalla quantità di AVS presente nel sedimento ed è causa di mortalità e bioaccumulo negli organismi acquatici quando il rapporto molare Cd-SEM/AVS è maggiore di uno (Gerald, 1991).

Il Cd reagisce con gli AVS per formare il solfuro di cadmio solido. Se la concentrazione molare di AVS nel sedimento eccede quella del metallo, allora quest'ultimo sarà intrappolato nella fase solida e non sarà disponibile per gli organismi acquatici. Qualora le concentrazioni di Cd eccedano quelle di AVS, questo sarà biodisponibile perché disciolto nelle acque interstiziali.

La sua tossicità dipende dalle concentrazioni di Cd-SEM e AVS: infatti, in un lavoro di Di Toro (1990), la mortalità degli organismi è aumentata nel momento in cui le concentrazioni di Cd-SEM hanno superato quelle degli AVS, mentre la mortalità di tutti gli organismi esposti si è verificata per un rapporto [Cd-SEM]/[AVS] maggiore di 3. Altri autori (Lee e Lee, 2005), da prove di laboratorio sul polichete *Neanthes arenaceodentata* hanno dimostrato come la capacità del Cd di accumularsi nei suoi tessuti dipende dalle concentrazioni di AVS nei sedimenti. Nel dettaglio, a basse concentrazioni di AVS (circa  $1 \mu\text{mol g}^{-1}$ ), il Cd aumenta la sua concentrazione nei tessuti del polichete in relazione all'aumento della concentrazione di Cd-SEM; ciò ha comportato una maggior mortalità e inibizione alla crescita del polichete stesso. Per medi ed alti valori (rispettivamente  $5 \mu\text{mol g}^{-1}$  e  $10 \mu\text{mol g}^{-1}$ ) di concentrazione di AVS, il Cd non ha dato fenomeni di bioaccumulo.

Il Cu è molto abbondante nella crosta terrestre e raggiunge valori di circa 50 ppm. Nei suoli e nei sedimenti le concentrazioni si trovano solitamente in un range tra 20 e 50 ppm. Si trova negli ambienti marini sotto forma di catione libero, bivalente ( $\text{Cu}^{2+}$ ) o monovalente ( $\text{Cu}^{1+}$ ), e può essere facilmente adsorbito sulle superfici cariche. La forma bivalente è quella maggiormente presente. È un nutriente essenziale per la vita di animali e piante, ma alte concentrazioni di rame possono risultare tossiche. Come nel caso del Cd, il sedimento gioca un ruolo importante nella regolazione della concentrazione del Cu, sia nelle acque interstiziali che nella colonna d'acqua. I fattori che influenzano la sua solubilità sono il contenuto di sostanza organica, la presenza di ossidi di Fe-Mn, il contenuto di cloruri ed il tipo di argilla presente nei sedimenti. Il Cu è presente in natura sottoforma di solfuri, solfati e carbonati. Uno studio ha riscontrato come l'esposizione del batterio *Vibrio fischeri* a questo elemento, determini la diminuzione dell'intensità della luminescenza dello stesso in relazione al tempo di esposizione (Vivek et al., 2004).

I valori di Ni nei sedimenti si aggirano solitamente tra 5 e 80 ppm. È associato a molti tipi di rocce e quindi può essere

mobilizzato nell'ambiente circostante a seguito della disgregazione meccanica e dall'alterazione chimica delle rocce stesse. Negli ambienti acquatici viene trasportato sia sottoforma particellare che disciolta. Il materiale organico ha una forte capacità di assorbire tale metallo che si trova spesso associato anche ai solfuri. Viene rilasciato nell'aria dalle centrali elettriche e dagli inceneritori di rifiuti; tenderà quindi a sedimentare nel terreno a seguito di deposizioni umide. La maggior parte del Nichel rilasciato nell'ambiente viene assorbito dai sedimenti o dalle particelle del terreno che lo immobilizzano.

L'analisi di sedimenti estuarini contaminati da Ni e Cd hanno evidenziato come la tossicità di questi metalli su un anfipode (*Hyalella azteca*) e un oligochete (*Lumbriculus variegatus*) dipende dal rapporto SEM/AVS e non dalla concentrazione totale dei metalli nel sedimento (Gerald, 1991). Per un rapporto SEM/AVS < 1 la mortalità di *H. azteca* è risultata essere inferiore del 20% laddove per un rapporto SEM/AVS > 1, la mortalità sale a più del 40%. È stato inoltre osservato che la capacità di bioaccumulo del Ni nei tessuti non dipende dalla concentrazione totale dei metalli nel sedimento, ma bensì alla quantità di AVS; per campioni con un rapporto SEM/AVS < 1, la quantità di metalli bioaccumulati in *L. variegatus* è minima, mentre per un rapporto SEM/AVS > 1, le concentrazioni dei metalli nei tessuti aumentano considerevolmente. Uno studio condotto sul polichete *Neanthes arenaceodentata* ha dimostrato che la quantità di Ni accumulato nei tessuti del polichete è in relazione alla sola concentrazione di Ni e non dipende dalla quantità di AVS presenti nel sedimento come per il Cd (Lee e Lee, 2005). Questo suggerisce che il polichete assorbe grandi quantitativi di Ni, in relazione alla concentrazione del metallo nel sedimento. Inoltre, è stato evidenziato che il Ni non è responsabile della diminuzione della crescita e della mortalità del *Neanthes arenaceodentata*.

Il Pb ha una concentrazione media sulla crosta terrestre di 15 ppm. È considerato un inquinante ubiquitario negli ecosistemi acquatici, nei quali è presente negli stati di ossidazione Pb<sup>2+</sup> e Pb<sup>4+</sup>, che risultano poco solubili in acido. È normalmente presente nelle rocce e presenta caratteristiche simili a quelle

del K, Na, Ca e Ba, ai quali può sostituirsi nella matrice della roccia stessa. Normalmente è poco solubile in condizioni ambientali, ma la sua solubilità tende ad aumentare in presenza di moderate condizioni acide; il pH è perciò un parametro che ne influenza la mobilità, la stabilità e le sue forme chimiche presenti nell'ambiente. Nei sedimenti, con un pH compreso tra 5 e 8,5 è presente sottoforma di carbonato, mentre per valori compresi tra 8,5 e 12,5 come idrossido; è inoltre facilmente adsorbito dalle particelle colloidali organiche ed inorganiche. Nel sedimento, il Pb è maggiormente presente come solfuro, carbonato e solfato, che risultano però essere meno solubili.

Le principali sorgenti antropiche di Pb sono le benzine, che rilasciano composti organometallici, e le attività umane che rilasciano composti inorganici (combustione del carbone e oli combustibili, processi di estrazione e lavorazione di minerali contenenti Pb, fonderie ed inceneritori di rifiuti).

Sia i composti organici che inorganici del Pb possono causare seri danni al biota acquatico, anche se generalmente non danno fenomeni di bioaccumulo. Elevati effetti di tossicità del Pb nei sedimenti sono stati riscontrati valutando l'inibizione alla crescita della microalga *Cylindrotheca closterium* (Moreno-Garrido et al., 2003). È stata inoltre osservata una relazione positiva tra la mortalità del copepode *Amphiascus tenuiremis* e la concentrazione di Pb nei sedimenti (Hagopian-Schlekat et al., 2001).

Lo Zn è molto abbondante sulla crosta terrestre e presenta valori che si aggirano sui 100 ppm. Nei suoli e nei sedimenti la concentrazione si aggira attorno ai 30 ppm. Lo si trova principalmente come ione bivalente e risulta poco solubile in condizioni acide e neutre. La sua biodisponibilità è legata al pH e alle condizioni di ossido-riduzione. Tra i metalli sopra citati è il più mobile.

Ad elevate concentrazioni e per tempi di esposizione prolungati, lo Zn presenta un'elevata tossicità per gli organismi bentonici, come ad esempio per l'anfipodo *Tiburionella viscana* (Melo e Nipper, 2007). Uno studio condotto sul batterio *Vibrio fischeri* ha valutato la diminuzione della sua luminescenza all'aumentare

delle concentrazioni di Zn e Cu (Vivek et al., 2004). I risultati hanno inoltre evidenziato come l'esposizione di questo batterio allo Zn abbia comportato effetti di diminuzione di intensità della luminescenza anche in relazione al tempo di esposizione. La miscela binaria dei due elementi (zinco e rame) comporta un effetto ancora più marcato e veloce. Lo studio condotto da Lee e Lee (2005) ha evidenziato come la quantità di Zn assorbita dal polichete *Neanthes arenaceodentata* dipende dalla quantità di AVS presenti nei sedimenti; nello specifico, a basse concentrazioni di AVS, la quantità di Zn assorbita dal polichete è maggiore, mentre ad alte concentrazioni il fenomeno di assorbimento dello Zn è meno marcato e avviene meno repentinamente.

#### **2.4 Evoluzione delle tecniche analitiche per l'estrazione degli AVS**

Attraverso gli anni sono state elaborate differenti tecniche di estrazione per gli AVS; le prime metodiche valutavano le differenze di estrazione in base all'aggiunta di HCl a caldo (Koltoff e Sandell, 1952; Berner et al., 1979; Zhabina e Volkov, 1978., Wieder et al., 1985) oppure a freddo (Aller, 1977; Albert, 1984; Allen et al., 1993, Brumbaugh e Arms, 1996), nonché la possibile aggiunta di SnCl<sub>2</sub> o TiCl<sub>2</sub> (Berner et al., 1979; Westrich, 1983; Albert, 1984; Cornwell e Morse, 1987) per diminuire le interferenze del Fe<sup>3+</sup>. Le concentrazioni di HCl possono variare da 1 M a 6 M, ma la soluzione 6 M ha una capacità maggiore di solubilizzare la componente più resistente (Rickard e Morse, 2005). In un altro studio è stato utilizzato H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1 N invece dell'HCl, in presenza di TiCl<sub>2</sub> (Albert, 1984).

Secondo la ricerca di Brumbaugh e Arms (1996), che hanno studiato come varia l'estrazione degli AVS e dei SEM in relazione alla forza dell'acido utilizzato, è stato ipotizzato che per il Cu-SEM si possono avere forti dipendenze delle concentrazioni estratte e dal contenuto di AVS; ciò è dovuto dal fatto che il Cu può precipitare a pH estremamente bassi per reazione con il solfuro.

Questo fenomeno può comportare uno scarso recupero del solfuro da alcuni sedimenti.

Tra le varie tecniche di estrazione degli AVS studiate si distinguono fondamentalmente due metodiche: una di "purge and trap" e un'altra di diffusione (Herbert, 1993). Nel primo caso il solfuro si forma per reazione del sedimento con HCl in un pallone di reazione a temperatura ambiente e viene trasportato attraverso un flusso di azoto in un cilindro di reazione nel quale è contenuta una soluzione che intrappola il solfuro liberato. La seconda tecnica è molto simile alla prima ma il solfuro reagisce con HCl direttamente in una camera di reazione nella quale è presente anche la soluzione tampone anti-ossidante specifica per il solfuro.

Uno studio sull'estrazione dei solfuri dalla fase amorfa (Cornwell e Morse, 1987) ha riscontrato che una concentrazione tra 1 e 6 M di HCl è sufficiente a complessare e disciogliere completamente il solfuro di ferro amorfo, senza rilasciare quello proveniente dalla pirite (Allen et al., 1993).

La US Environmental Protection Agency (EPA) prevede tre diverse metodiche per la determinazione degli AVS (EPA, 1991):

- ❖ metodo gravimetrico: l' $\text{H}_2\text{S}$  viene intrappolato in  $\text{AgNO}_3$  con la conseguente formazione di  $\text{Ag}_2\text{S}$ . Quest'ultimo verrà infine pesato per determinare la quantità di solfuro presente. Questa tecnica è meglio impiegata per campioni con alte o moderate concentrazioni di AVS;
- ❖ metodo colorimetrico: l' $\text{H}_2\text{S}$  viene intrappolato in una soluzione di NaOH. Il solfuro reagisce poi con N-N-dimethyl-p-phenylenediamine per formare il blu di metilene che verrà misurato per via spettrofotometrica. Questa tecnica consente di determinare anche basse concentrazioni di solfuro nel sedimento (circa  $0,01 \mu\text{mol g}^{-1}$ );
- ❖ metodo con elettrodi ione-selettivi: l' $\text{H}_2\text{S}$  viene intrappolato in una soluzione tampone e quindi determinato con l'ausilio di elettrodi ione-selettivi.

Lasorsa e Casas (1996) hanno condotto uno studio in cui evidenziavano che i valori degli AVS ottenuti dall'analisi di siti a diverse concentrazioni, erano differenti a seconda della metodica utilizzata (gravimetrica, colorimetrica e con elettrodi ione-selettivi). Nei siti a basse concentrazioni di AVS, le tre metodiche hanno dato gli stessi risultati, che sono risultati essere comparabili tra loro; per alte concentrazioni di AVS hanno riscontrato che il metodo colorimetrico e quello con elettrodi ione-selettivi danno risposte più accurate rispetto a quello gravimetrico.

Lavorando con campioni ambientali incogniti, e tenuto conto anche della precisione della tecnica spettrofotometrica e di quanto appena detto, in questo lavoro di tesi è stato utilizzato il metodo colorimetrico.

### 3. MATERIALI E METODI

#### 3.1 Disegno di campionamento

Il disegno di campionamento applicato è stato definito tenendo in considerazione il fatto che il sistema lagunare della Pialassa Baiona è un'area comunicante sia con la zona costiera, che con l'area industriale e portuale della città di Ravenna. È per questo motivo che sono stati ipotizzati due tipi di gradienti: uno naturale terra-mare (tipico degli ambienti lagunari costieri) che presenta una direzione principale da est verso ovest legato all'idrologia del sistema (in particolar modo alla velocità della corrente, al ricambio idrico, al ritardo di marea, alla salinità, alla concentrazione dei nutrienti e alle fluttuazioni naturali della temperatura) e un gradiente antropico, legato alla vicinanza dell'area portuale, con i poli industriali della città e la presenza delle due centrali termoelettriche (EniPower ed ENEL). L'impatto antropico è massimo nella zona meridionale della Pialassa (canale Magni-Staggi), dove vengono direttamente scaricate le acque reflue industriali, urbane e di raffreddamento delle centrali. Il gradiente antropico presenta quindi un andamento che va da nord verso sud e risulta essere sostanzialmente perpendicolare al gradiente naturale (**Figura 13**) (Ponti et al., 2011).

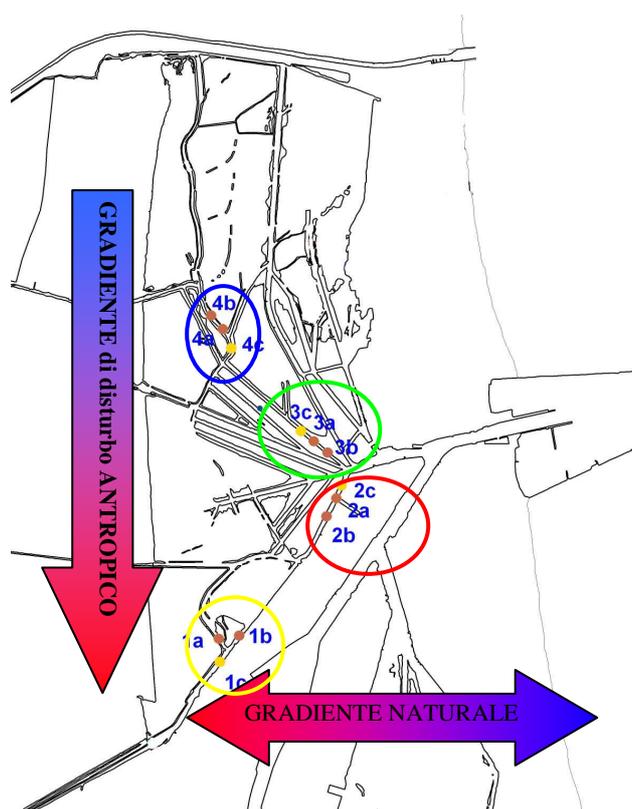
Considerando perciò questi due gradienti e l'elevata eterogeneità spaziale tipica degli ambienti di transizione, è stato applicato un disegno di campionamento di tipo misto: ortogonale e gerarchico, dove sono stati considerati tre fattori di analisi:

- distanza dalle sorgenti di disturbo;
- distanza dal mare;
- siti di campionamento all'interno dell'interazione dei due fattori precedenti.

Per i primi due fattori sono stati considerati due livelli fissi (vicino e lontano), mentre per l'ultimo fattore, tre livelli casuali (A, B, C). Le diverse combinazioni tra vicino e lontano dal mare e dalle sorgenti di disturbo, identificano 4 aree (1, 2, 3, 4): sono perciò state campionate due aree vicino al disturbo

antropico (area 1 e 2), localizzate lungo i Canali Magni e Staggi, e due aree lontane dal disturbo antropico (area 3 e 4), localizzate lungo i canali Fossatone e Taglio della Baiona. Allo stesso tempo, per quanto riguarda il gradiente terra-mare: due aree sono vicino al mare (area 2 e 3) e due aree sono lontane dal mare (1 e 4), come riportato nella **Tabella 1**.

Per ogni area sono poi stati scelti casualmente 3 siti di campionamento (A, B, C) e per ogni sito sono stati prelevati 3 campioni replica (**Figura 13**) per un totale di 36 campioni di sedimento. Le stazioni sono state localizzate tramite l'uso di un DGPS e sono state campionate con un box corer Wildco. Per le analisi chimiche sono stati prelevati i primi 5 cm di sedimento.



**Figura 13** Siti di campionamento.

**Tabella 1** Distribuzione delle aree nel disegno di campionamento.

		DISTANZA DAL MARE	
		vicino	lontano
DISTANZA  DAL DISTURBO	vicino	<b>Area 2</b>	<b>Area 1</b>
		3 siti 3 repliche	3 siti 3 repliche
	lontano	<b>Area 3</b>	<b>Area 4</b>
		3 siti 3 repliche	3 siti 3 repliche

### 3.2 Tecniche di estrazione e di analisi dei metalli pseudo-totali

I campioni di analisi sono stati preventivamente essiccati ad una temperatura inferiore ai 40°C per evitare la perdita degli elementi più volatili, quindi sono stati macinati ed omogeneizzati in un mortaio ed infine setacciati con un setaccio da 63 µm.

La mineralizzazione dei campioni e dei materiali certificati è stata eseguita in un sistema chiuso al microonde (Milestone, modello MLS-1200 MEGA, **Figura 14**), in recipienti di teflon.



**Figura 14** Microonde Milestone, modello MLS-1200 MEGA.

I campioni di sedimento opportunamente pesati (circa 100 mg) sono stati trattati con la miscela di acqua regia (1 ml HNO<sub>3</sub> + 3 ml HCl) e sottoposti al seguente ciclo operativo al microonde: 6 min a 250 W, 6 min a 400 W, 6 min a 700 W e 6 min a 400 W. Gli acidi utilizzati per le estrazioni sono suprapuri.

A seguito dei vari cicli di potenze al microonde, i vessel sono stati raffreddati. La soluzione risultante è stata opportunamente filtrata e portata a volume in un matraccio da 50 ml ed infine conservata in frigorifero a 4°C fino al momento delle analisi. La prova in bianco è stata effettuata per ogni batch di estrazione con le stesse modalità operative.

Gli estratti dei campioni sono stati analizzati mediante assorbimento atomico con fornello di grafite (GFAAS) (Perkin-Elmer Modello A Analyst 100), per il contenuto di Cu, Ni, Pb e Cd, e in assorbimento accoppiato alla fiamma per il contenuto di Zn.

Le condizioni strumentali impiegate sono riportate nelle tabelle seguenti (**Tabella 3, Tabella 4, Tabella 5, Tabella 5**):

**Tabella 2** Programma termico per il cadmio ( $\lambda = 228,8$  nm).

Step	Temperature °C	Ramp Time (s)	Hold Time (s)
1	110	1	30
2	130	15	30
3	500	10	20
4	1500	0	5
5	2450	1	3

**Tabella 3** Programma termico per il rame ( $\lambda = 324,8$  nm).

Step	Temperature °C	Ramp Time (s)	Hold Time (s)
1	110	1	30
2	130	15	30
3	1200	15	20
4	2300	0	5
5	2600	1	3

**Tabella 4** Programma termico per il nichel ( $\lambda = 232,0$  nm).

Step	Temperature °C	Ramp Time (s)	Hold Time (s)
1	110	1	10
2	130	15	30
3	1400	25	20
4	2500	0	5
5	2700	1	3

**Tabella 5** Programma termico per il piombo ( $\lambda = 283,3$  nm).

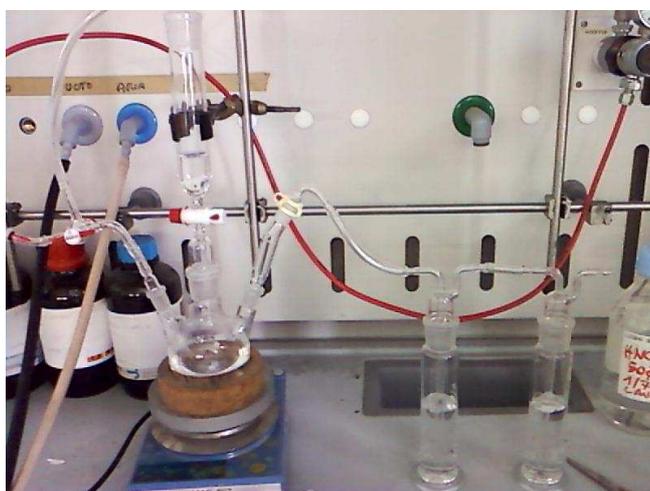
Step	Temperature °C	Ramp Time (s)	Hold Time (s)
1	110	1	30
2	130	15	30
3	850	15	20
4	1800	0	5
5	2450	1	3

Durante questi stadi il fornello è attraversato da un flusso costante di Argon con lo scopo di proteggerlo dall'aria e mantenerlo pulito; il flusso viene interrotto durante la fase di atomizzazione per non asportare gli atomi dell'elemento di analisi che verranno così esposti al raggio incidente. Il vantaggio rispetto allo spettrofotometro a fiamma consiste nel poter scegliere la temperatura ottimale di atomizzazione ed inoltre presenta una sensibilità 1000 volte maggiore all'atomizzazione in fiamma. Il sistema di rivelazione è un tubo fotomoltiplicatore che converte il segnale luminoso in un elettrico proporzionale all'intensità della luce entrante. Lo strumento è stato calibrato con 5 standard a concentrazione nota ed un bianco. I risultati ottenuti sono poi stati elaborati per ottenere le curve di taratura per ogni elemento.

### **3.3 Determinazione di Simultaneously Extracted Metals - Acid Volatile Sulfides (SEM -AVS)**

L'apparecchiatura utilizzata, mostrata in **Figura 15** prevede l'uso di un pallone da 250 ml a tre uscite, due trappole contenenti una

soluzione di NaOH per intrappolare il solfuro formatosi nel pallone, connessioni con tubi di Tygon® resistenti alla corrosione e una colonna dotata di una rubinetta a farfalla per introdurre HCl. Tutto il sistema è tenuto sotto flusso costante di azoto per eliminare la presenza dell'ossigeno e quindi i fenomeni di ossidazione dei solfuri che si liberano a seguito dell'aggiunta di HCl. L'H<sub>2</sub>S prodotto dalla reazione dell'acido con il sedimento ha scarsa solubilità in acqua, quindi viene facilmente trasportato nelle trappole di NaOH dal flusso di N<sub>2</sub>.



**Figura 15** Rappresentazione dell'apparecchiatura utilizzata per l'estrazione con la tecnica SEM-AVS

### 3.4 Reagenti e calibrazione dello spettrofotometro

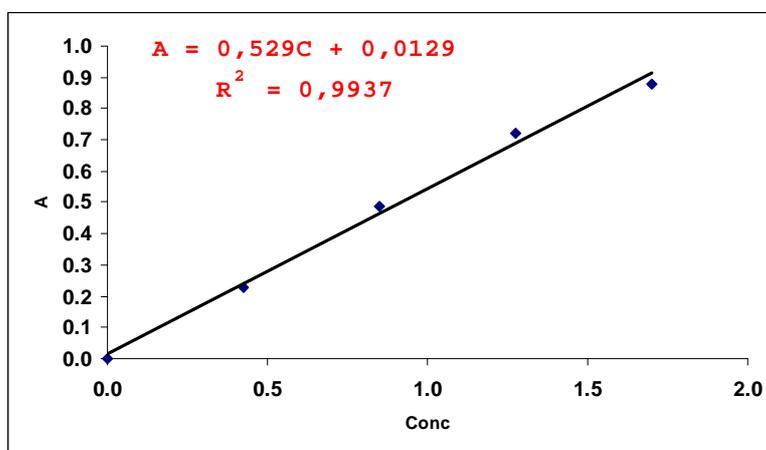
Le curve di calibrazione sono state effettuate a basse (tra 0,0-2,5  $\mu\text{mol S}^{2-}$ ) o ad alte concentrazioni (range tra 0,0-20,0  $\mu\text{mol S}^{2-}$ ) in relazione al quantitativo di solfuro nel campione. I reagenti utilizzati e le relative sostanze che li caratterizzano sono riportati di seguito:

- **soluzione A:** H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, N-N-dimethy-p-phenylenediamine oxalate;
- **soluzione B:** FeCl<sub>3</sub>\*6H<sub>2</sub>O, HCl;
- **MDR:** miscela tra la soluzione A e la B;
- **Soluzione madre Na<sub>2</sub>S\*9H<sub>2</sub>O 50  $\mu\text{M}$ :** Na<sub>2</sub>S\*9H<sub>2</sub>O solido;
- **NaOH 1 M;**

- NaOH 0,5 M;
- Soluzione di acido solforico 1 M;
- HCl 6 M.

Per quanto riguarda la calibrazione a bassa concentrazione sono stati preparate 6 soluzioni standard (a partire dalla soluzione madre di  $\text{Na}_2\text{S}\cdot 9\text{H}_2\text{O}$ ) rispettivamente a 0,00, 0,50, 1,00, 1,50, 2,00 e 2,50  $\mu\text{mol}$  di  $\text{S}^{2-}$ . A queste sono stati addizionati 10 ml di MDR prima di portare a volume con acqua deionizzata. Dopo 30 minuti è stata misurata l'assorbanza a 670nm.

Nella calibrazione ad alte concentrazioni (esempio in **Figura 16**) si utilizzano degli standard rispettivamente a 0, 5, 10, 15 e 20  $\mu\text{mol}$  di  $\text{S}^{2-}$  preparati anch'essi a partire dalla soluzione madre. Sono stati aggiunti 10 ml di MDR e si è portato a volume con acqua deionizzata. Dopo 30 minuti le soluzioni standard sono state diluite 10 volte con  $\text{H}_2\text{SO}_4$  1 M ed è stata perciò misurata la relativa assorbanza.



**Figura 16** Esempio di retta di calibrazione per gli AVS.

La determinazione di AVS-SEM (Cd, Cu, Ni, Pb, Zn) è stata effettuata secondo il metodo EPA di Allen et al. (1991).

Circa 100 ml di acqua deionizzata sono stati introdotti nel pallone; il sistema è stato tenuto sotto flusso di azoto per 10 minuti. Un'aliquota esatta di sedimento umido (circa 5 g) è stata pesata ed introdotta nel pallone; il sistema è stato mantenuto sotto flusso di azoto per altri 10 minuti. È stato perciò introdotto HCl 6 M e il sistema è stato mantenuto sotto azoto per

un ora. I solfuri intrappolati nella soluzione di NaOH contenuta nelle bottiglie dressler, sono stati analizzati con lo spettrofotometro (DR2010, HACH Company) previa diluizione con acido solforico e aggiunta del reagente MDR. Alla fine della reazione, il sedimento sospeso nel pallone è stato filtrato con un filtro di carta Whatman 42 e l'estratto è stato portato a volume noto con acqua deionizzata e acidificato con HNO<sub>3</sub> concentrato. Le analisi di Cd, Ni, Pb e Cu sono state effettuate con assorbimento atomico dotato di fornetto di grafite, lo Zn è stato determinato per assorbimento atomico in fiamma.

I risultati relativi al contenuto di AVS e SEM sono espressi in relazione al peso secco del campione di sedimento.

Il calcolo della concentrazione di AVS viene così effettuato:

$$AVS(\mu M / g) = \frac{S}{(R \cdot W_w)}$$

dove S = quantità di AVS nel sedimento espresso in  $\mu\text{mol}$ ;

R = rapporto tra peso secco e peso umido;

$W_w$  = peso umido del sedimento (g).

La fase finale consiste nel calcolare il rapporto tra SEM/AVS inteso come:

$$\frac{SEM}{AVS} = \frac{\Sigma[\text{metalli}]}{AVS}$$

dove:

SEM = somma dei metalli estratti (Cu, Zn, Pb, Cd, Ni)  
espressa in  $\mu\text{mol g}^{-1}$ ;

AVS = concentrazione dei solfuri acidi volatili espressa in  $\mu\text{mol g}^{-1}$ .

Il controllo di qualità per la determinazione dei solfuri, è stato effettuato analizzando una serie di repliche di un campione di sedimento. I risultati ottenuti ( $9,9 \pm 0,9 \mu\text{mol g}^{-1}$ ) hanno restituito un buon coefficiente di variabilità pari al 9%.

### 3.5 Controllo di qualità della metodica

Il controllo di qualità è stato effettuato mediante l'analisi in replicato di due materiali certificati per le concentrazioni dei metalli: il MESS3 (Marine sediment, National Research Council, Canada) e il BCR-146R (mixed sludge, centro dell'Unione Europea). Inoltre, in ogni batch di estrazione dei campioni di sedimento, è stato analizzato il materiale certificato MESS-3.

Per il MESS3 sono state utilizzate due diverse miscele: una per l'estrazione del contenuto totale di metalli (1 ml  $\text{HNO}_3$  + 3 ml  $\text{HCl}$  + 1 ml  $\text{HF}$ ), e l'altra per l'estrazione dei metalli che definiremo "pseudo totali", con acqua regia. Il ciclo operativo al microonde è stato lo stesso impiegato per i campioni di sedimento. Per l'attacco totale, dopo il ciclo operativo al microonde, è stato aggiunto  $\text{H}_3\text{BO}_3$  per tamponare  $\text{HF}$ , e il materiale certificato è stato nuovamente sottoposto ad un ulteriore ciclo di potenze: 5 min a 250 W, 1 min a 0 W e 5 min a 500 W.

Per quanto riguarda il materiale certificato BCR-146R, è stata impiegata la stessa miscela di estrazione utilizzata per il MESS3, sia per i metalli totali che per quelli pseudo totali, ma con un diverso ciclo di potenze: 1 min a 250 W, 1 min a 0 W, 4 min a 400 W, 4 min a 550 W e 5 min a 300 W.

I valori relativi all'errore del metodo e al recupero, sono riportati in **Tabella 6**. L'errore in percentuale associabile alla concentrazione misurata di ciascun metallo (E) è stata valutato come:

$$E = \sqrt{[(DS_1 / conc_1)^2 + (DS_2 / conc_2)^2]} * 100$$

dove:

DS<sub>1</sub> = deviazione standard certificata associata al materiale certificato (MESS3 e BCR-146R);

DS<sub>2</sub> = deviazione standard ricavata sperimentalmente sui materiali certificati (MESS3 e BCR-146R)

Conc<sub>1</sub> = media delle concentrazioni dei metalli in traccia certificata e associata ai materiali certificati (MESS3 e BCR-146R)

Conc<sub>2</sub> = media delle concentrazioni dei metalli in traccia ricavata sperimentalmente sui materiali certificati (MESS3 e BCR-146R)

Il recupero in percentuale (R) è stato calcolato secondo la seguente formula:

$$R = \left( \frac{conc_2}{conc_1} \right) * 100$$

La precisione del metodo è stata controllata analizzando, per ogni batch di campioni, più repliche di un sedimento marino di riferimento certificato dal *Canadian National Research Council* (MESS3).

I risultati delle analisi sui materiali certificati hanno mostrato come le due diverse miscele di estrazione restituiscono all'incirca le stesse percentuali di estrazione, mostrando in alcuni casi un recupero leggermente maggiore per la miscela di sola acqua regia (metalli pseudo totali) probabilmente a causa delle minori interferenze strumentali (**Tabella 6**).

**Tabella 6.** Concentrazioni certificate e misurate nei materiali certificati MESS-3 (a) e BCR-146R (b), espresse in ppm; percentuali di recupero (R) ed errore percentuale (E). Analisi effettuate in assorbimento atomico con fornetto di grafite per tutti gli elementi escluso lo zinco, il quale è stato analizzato in fiamma.

(a) **MESS-3**

Metallo	Val. certificato	Val. misurato		Val. misurato			
	media (ppm)	media (ppm)	R(%)	E(%)	media (ppm)	R(%)	E(%)
		attacco con acqua regia			attacco totale		
Cd	0,24 ± 0,01	0,29 ± 0,03	133	11	0,30 ± 0,00	119	4
Cu	33,9 ± 1,6	27,2 ± 1,8	80	8	31,0 ± 1,3	94	6
Ni	46,9 ± 2,2	42,52 ± 1,6	91	6	37,0 ± 4,3	79	12
Pb	21,1 ± 0,7	15,7 ± 0,6	74	5	23,8 ± 0,4	113	4
Zn	159,0 ± 8,0	144,0 ± 3,8	91	6	143,0 ± 3,0	90	5

**BCR-146R**

Metallo	Val. certificato	Val. misurato		
	media (ppm)	media (ppm)	R(%)	E(%)
		attacco con acqua regia		
Cd	18,4 ± 0,4	12,8 ± 1,0	70	8
Cu	831,0 ± 16,0	900,6 ± 29,4	108	4
Ni	65,0 ± 3,0	61,1 ± 3,7	94	8
Pb	583,0 ± 17,0	516,6 ± 16,8	89	4
Zn	3040,0 ± 60	2446,0 ± 64,6	80	3
		attacco totale		
Cd	18,8 ± 0,5	16,0 ± 0,4	85	4
Cu	838,0 ± 16,0	729,0 ± 21,8	79	4
Ni	70,0 ± 5,0	68,6 ± 2,6	89	8
Pb	609,0 ± 14,0	419,0 ± 14,5	53	4
Zn	2708,0 ± 60,0	2708,0 ± 109,2	89	4

### 3.6 Analisi statistica dei campioni

Al fine di valutare le possibili relazioni tra le variabili metalli pseudo totali,  $\Sigma$ SEM e AVS con la concentrazione di sostanza organica nei sedimenti ottenuta mediante LOI (*loss of weight on ignition*), calcolata dallo studio di Bonaiuti (2011), è stata effettuata una analisi di correlazione lineare (programma utilizzato Statistica 6.0 by StatSoft).

Per valutare l'effetto del gradiente terra-mare e del gradiente antropico sulla concentrazione dei metalli pseudo totali, sulla sommatoria dei SEM e sulla distribuzione degli AVS, i risultati ottenuti sono stati analizzati con un analisi della varianza (ANOVA; Underwood, 1997) tramite il programma GMAV5 per Windows.

Le differenze tra i valori medi delle variabili misurate sono state esaminate mediante ANOVA a tre fattori. I fattori scelti sono stati: Fattore 1 - Distanza dal mare ( $D_m$ ), fattore con due livelli fissi (vicino e lontano); Fattore 2 - distanza dalle sorgenti di inquinamento ( $D_i$ ), fattore con due livelli fissi; Fattore 3 - siti all'interno delle aree ( $S_i$ ), fattore con tre livelli casuali e gerarchizzati nell'interazione dei fattori  $D_m$  e  $D_i$ . In tutti i test è stato applicato il criterio di significatività del 5% di probabilità ( $\alpha = 0,05$ ) in cui si accettano come significativi i test statistici in cui si ha meno del 5% di probabilità che le differenze osservate non siano dovute ai fattori considerati nell'analisi ma al caso. Il modello lineare generale per questa analisi è rappresentato dall'equazione:

$$X = \mu + D_i + D_m + S_i(D_i \times D_m) + D_i \times D_m + Res$$

dove il valore di abbondanza dell'elemento X in una replica è dato dall'abbondanza media dell'elemento nell'area ( $\mu$ ) a cui si somma il contributo dovuto ai fattori definiti dal disegno di campionamento e dalla variabilità residua (Res).

Le fonti di variabilità considerate nel presente lavoro sono:

Source	DF	F versus
Dm	1	Si(DmXDi)
Di	1	Si(DmXDi)
DmXDi	1	Si(DmXDi)
Si(DmXDi)	8	RES
RES	24	
TOT	35	

Dove Source rappresenta la sorgente di variabilità, DF sono i gradi di libertà e F versus rappresenta il denominatore per il test di significatività.

L'assunzione di omogeneità delle varianze è stata verificata con il test C di Cochran ed i dati sono stati, quando necessario, opportunamente trasformati. In caso di mancanza di omogeneità della varianza non correggibile attraverso trasformazioni dei dati (test C di Cochran  $P < 0,05$ ), i test di ANOVA sono stati eseguiti applicando il criterio di significatività più cautelativo del 1 % di probabilità ( $\alpha = 0,01$ ).

In caso di omogeneità tra i siti all'interno delle aree (Si(Di X Dm  $P > 0,25$ )) è possibile eliminare questa sorgente di variabilità (*pooling*) in modo da rendere più potente l'analisi delle altre sorgenti di variabilità. In questo caso le sorgenti di variabilità e gli opportuni denominatori da considerare diventano:

Source	DF	F versus
Dm	1	Res
Di	1	Res
DmXDi	1	Res
Si(DmXDi)	8	pooled
RES	24	
TOT	35	

Basandosi sui risultati dell'analisi della varianza, ogni volta che è stata osservata la presenza di differenze significative nell'interazione tra i fattori principali (Di X Dm), è stato possibile discriminare le differenze a livello di aree soggette a diverse condizioni, mediante test a posteriori (SNK test).

## 4. RISULTATI E DISCUSSIONE

### 4.1 Metalli totali

I risultati relativi al contenuto totale dei metalli presenti nei sedimenti della Pialassa Baiona sono riportati in **Tabella 7** (vedi allegato). Dal confronto dei valori medi delle concentrazioni di Cd, Ni, Cu, Zn e Pb appare evidente come l'area 1 (siti A, B, C), localizzata vicino al disturbo e lontano dal mare, presenti concentrazioni generalmente più elevate rispetto alle zone centrali e settentrionali della Pialassa Baiona, aree 2, 3 e 4.

Per quanto riguarda il Cd, le concentrazioni dei metalli pseudo totali, variano da un minimo di  $0,10 \text{ mg kg}^{-1}$  ottenuto in un campione dell'area 2 ad un massimo di  $1,45 \text{ mg kg}^{-1}$  riscontrato in area 1, che mostra concentrazioni medie maggiori del valore medio di concentrazione dei valori tipici di fondo naturale dei sedimenti dell'Adriatico settentrionale e centrale (circa  $0,2 \text{ mg kg}^{-1}$ ; De Lazzari et al., 2004). Nelle altre aree, corrispondenti a quelle più centrali e settentrionali della Pialassa Baiona, le concentrazioni di Cd sono generalmente inferiori rispetto all'area 1 e con valori più o meno simili a quelli riportate per l'Adriatico (**Figura 17**). Dal confronto dei valori ottenuti dalle estrazioni dei metalli pseudo totali in questo studio con i valori guida (riferiti al contenuto totale dei metalli estratti) sulla qualità dei sedimenti marini, quali *Threshold Effect Level (TEL)* e *Probable Effect Level (PEL)* (Buchman, 2008), si può affermare che il Cd presente nei sedimenti della Pialassa Baiona non presenta concentrazioni tali da comportare un rischio per gli organismi acquatici se non nell'area 1, dove si può riscontrare un superamento del valore di TEL nel sito A, che potrebbe comportare lo sviluppo di effetti negativi sul biota acquatico.

Da uno studio precedente effettuato nella Pialassa Baiona (Ballardini et al., 1994), si può notare che le concentrazioni medie di Cd ( $0,33 \text{ mg kg}^{-1}$ ) sono confrontabili con quelle ritrovate in questo lavoro di tesi (**Tabella 7**). Successive indagini effettuate prima di un intervento di dragaggio della

laguna (Guerra et al., 2007) hanno mostrato concentrazioni di Cd in un range compreso tra non rilevabile dallo strumento (AAS-GF) e  $0,48 \text{ mg kg}^{-1}$ .

Il Cu varia invece da un minimo di  $15 \text{ mg kg}^{-1}$  misurato nell'area 4 ad un massimo di  $84 \text{ mg kg}^{-1}$  misurato nell'area 1. La concentrazione media di  $28 \text{ mg kg}^{-1}$ , calcolata per l'intera area, supera quella tipica dei sedimenti dell'Adriatico ( $16,5 \text{ mg kg}^{-1}$ ; De Lazzari et al., 2004); il valore medio rimane comunque all'interno del range di concentrazione (tra 2 e  $86 \text{ mg kg}^{-1}$ ) calcolato nello studio appena menzionato (**Tabella 7**). Confrontando i valori dei campioni con quelli di TEL e PEL, si può notare come le concentrazioni di Cu siano inferiori al livello di soglia degli effetti sul biota (TEL) in tutte le aree tranne che nell'area 1, dove si osservano alcuni superamenti dei valori medi (**Figura 17**). I valori ottenuti del Cu in questo studio di tesi (**Tabella 7**) sono confrontabili con i valori dello studio di Miserocchi et al. (1990) e con quelli dello studio di Guerra et al. (2007).

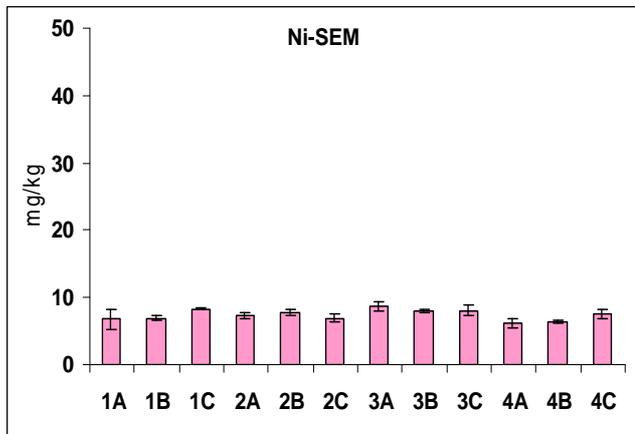
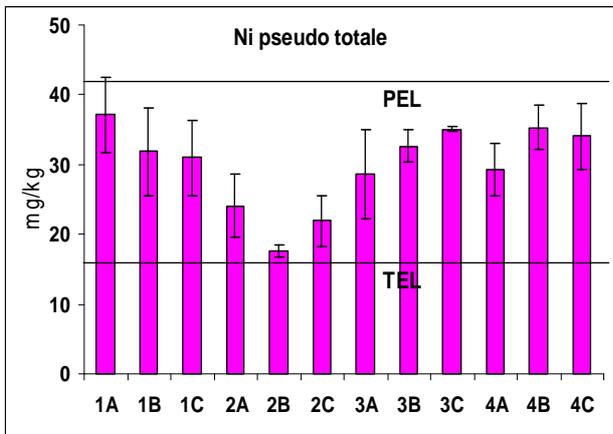
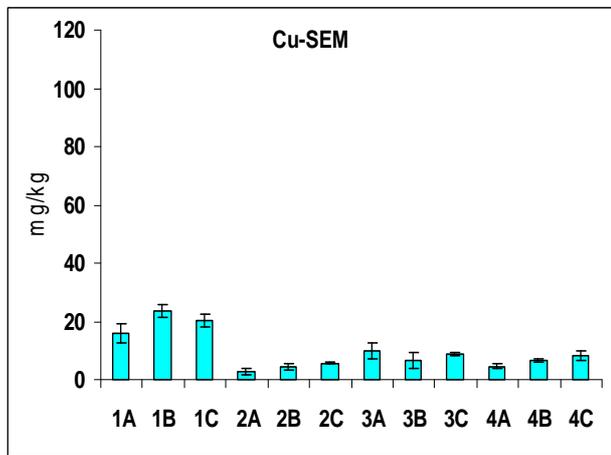
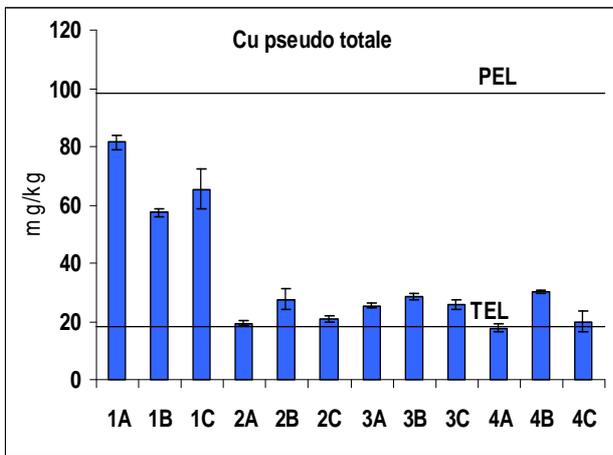
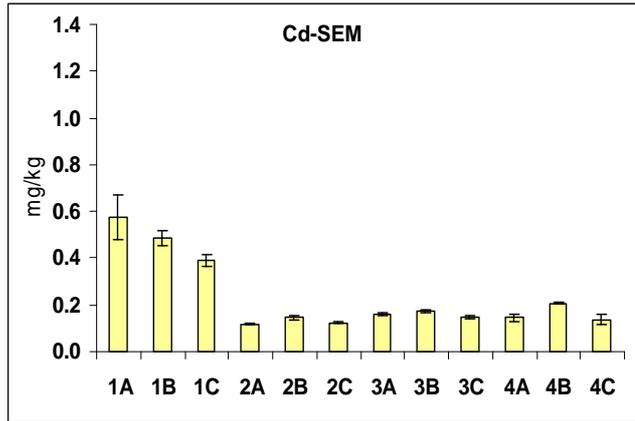
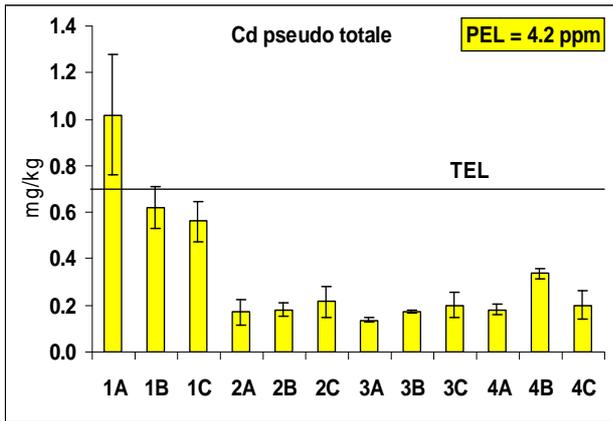
Il Pb varia da un minimo di  $10 \text{ mg kg}^{-1}$  misurato nell'area 4 ad un massimo di  $36 \text{ mg kg}^{-1}$  nell'area 1. Il valore medio di  $66 \text{ mg kg}^{-1}$  calcolato sui campioni è risultato essere superiore rispetto a quello relativo ai valori tipici dei sedimenti nell'Adriatico ( $27 \text{ mg/Kg}$ . De Lazzari et al., 2004). Come per il Cd, anche il Pb non mostra concentrazioni tali da poter prevedere effetti negativi sul biota residente se non nell'area 1 (sito A), dove il valore di TEL viene superato (**Figura 17**). I valori di Pb ritrovati sono paragonabili con quelli ottenuti da studi precedenti (Miserocchi et al., 1990, Ballardini et al., 1994, Guerra et al., 2007).

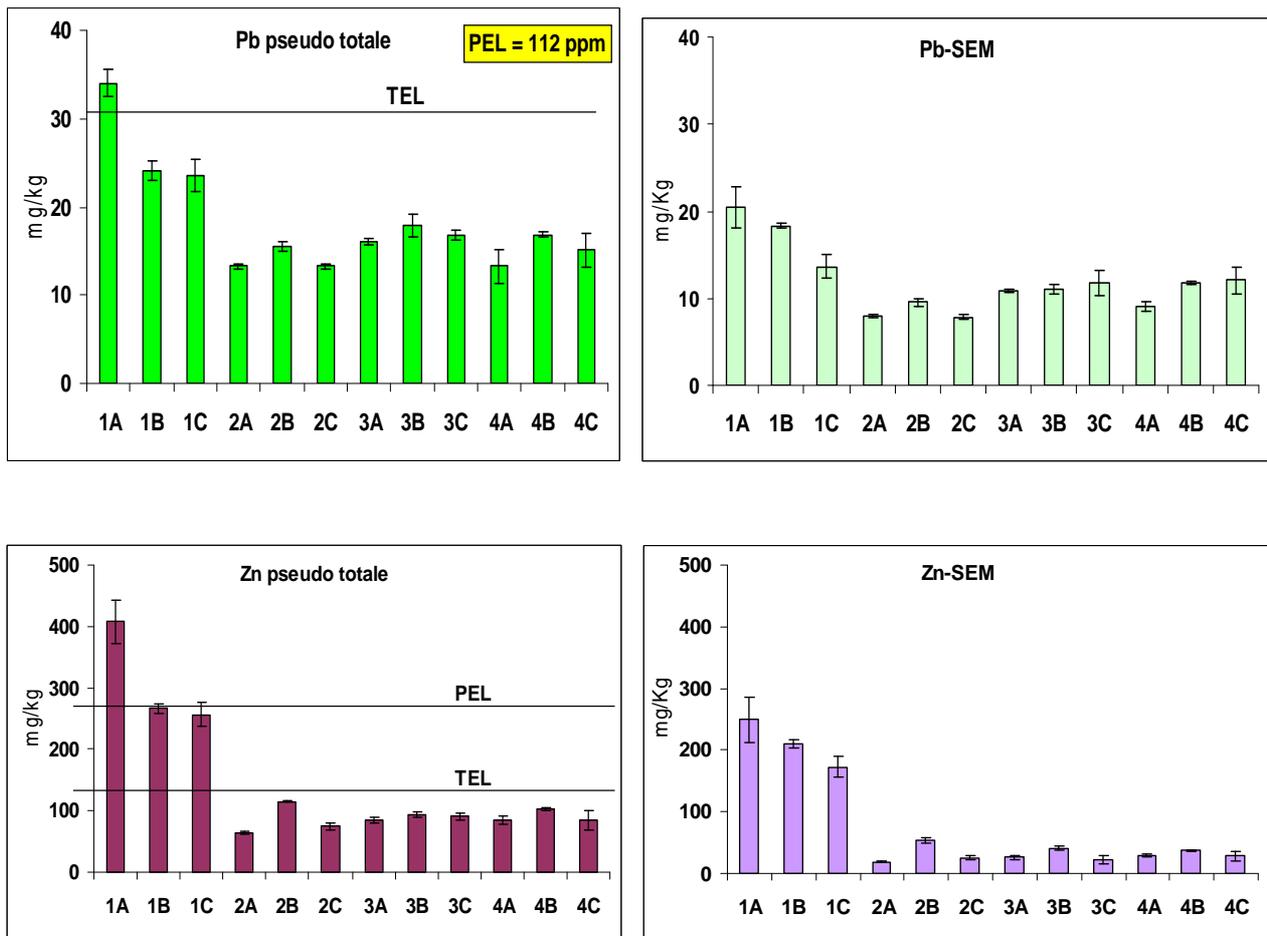
Lo Zn varia da un minimo di  $59 \text{ mg kg}^{-1}$  misurato nell'area 2 ad un massimo di  $466 \text{ mg kg}^{-1}$  misurato nell'area 1. La media calcolata sui campioni ( $43 \text{ mg kg}^{-1}$ ) è minore rispetto a quella dei valori tipici dei sedimenti marini nell'Adriatico ( $81 \text{ mg kg}^{-1}$ . De Lazzari et al., 2004); il range di concentrazione previsto da quest'ultimo studio è compreso tra 27 e  $162 \text{ mg kg}^{-1}$ . Analizzando i dati ottenuti sui campioni della Pialassa Baiona (**Tabella 7**),

si può subito notare che tutti i campioni dell'area 1 presentano valori di concentrazione superiori a quelli dei sedimenti dell'Adriatico. In generale, i sedimenti della Pialassa Baiona presentano concentrazioni di Zn inferiori a quelli del livello di soglia degli effetti sul biota (TEL); nell'area 1 invece si osserva in media il superamento di questo livello e in alcuni casi anche del livello di soglia degli effetti probabili (PEL).

La concentrazione media di Zn ritrovata in questo studio di tesi è paragonabile a quella riscontrata in altri lavori (Miserocchi et al., 1990; Ballardini et al., 1994).

I valori di Ni variano da un minimo di 15 mg kg<sup>-1</sup> misurato nell'area 2, ad un massimo di 45 mg kg<sup>-1</sup> nell'area 1. Il valore medio è di 28 mg kg<sup>-1</sup>, inferiore a quello dei sedimenti nell'Adriatico (59 mg kg<sup>-1</sup>; De Lazzari et al., 2004). Questi valori ci fanno presupporre che i valori di Ni sono di fondo naturale. Dal confronto con i valori guida per la qualità dei sedimenti, si può osservare come le concentrazioni di Ni nella zona di indagine risultino compresi tra il TEL e il PEL (**Figura 17**). Le concentrazioni medie di Ni ritrovate, sono confrontabili con quelle di altri studi (Miserocchi et al., 1990; Guerra et al. 2007; Simpson, 2001).



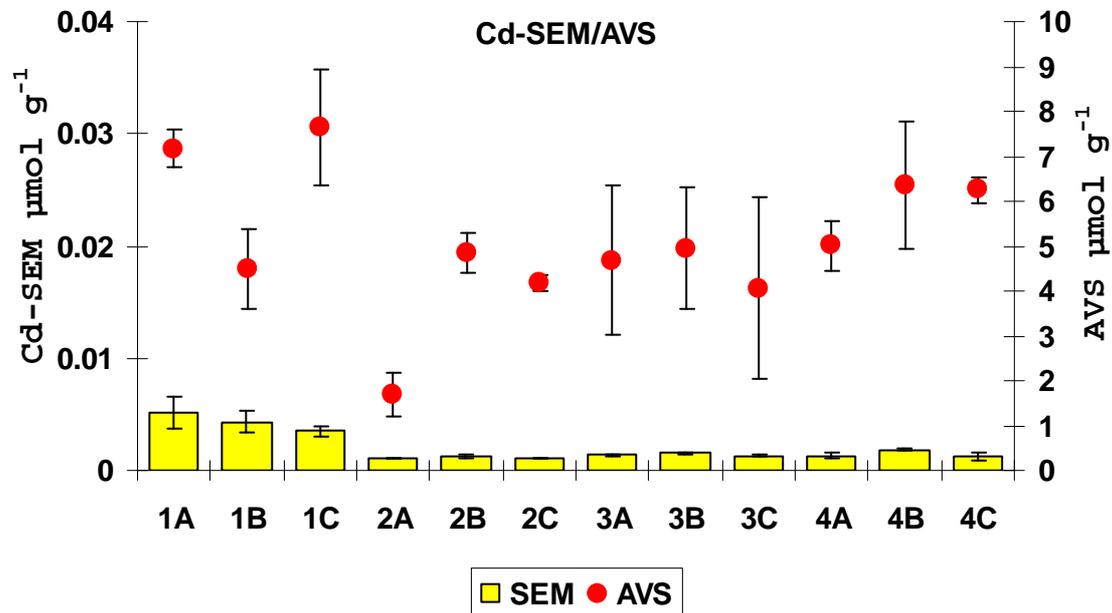


**Figura 17** Contenuto dei metalli pseudo-totali di Cd, Cu, Pb, Zn e Ni in relazione ai valori di *Threshold Effect Level (TEL)* e *Probable Effect Level (PEL)* (Buchman, 2008). Le concentrazioni dei metalli pseudo totali al di sopra del valore di TEL indicano che ci sono alcune possibilità che si possono presentare degli effetti negativi sul biota, mentre il superamento del valore di TEL comporta un'elevata probabilità di insorgenza di effetti negativi sul biota. I valori riportati rappresentano la media  $\pm$  errore standard di 3 repliche per ogni sito di campionamento. Confronto tra le concentrazioni di estrazione dei metalli totali e dei SEM di Cd, Cu, Ni, Pb e Zn.

#### 4.2 Simultaneously Extracted Metals (SEM) e Acid Volatile Sulfide (AVS)

Le concentrazioni più elevate di Cd-SEM ( $0,004-0,007 \mu\text{mol g}^{-1}$ ) negli estratti di sedimento con HCl 6 M, che rappresentano la frazione potenzialmente biodisponibile del metallo (SEM) si ritrovano nei sedimenti dell'area 1, associate a valori di solfuri (AVS) che variano da  $3,5$  a  $9,2 \mu\text{mol g}^{-1}$ . Nelle restanti aree (2, 3, 4) della Pialassa Baiona i valori di Cd-SEM si mantengono all'interno di un intervallo di variazione di  $0,001-$

0,002  $\mu\text{mol g}^{-1}$ , mentre gli AVS variano da 1,4 a 8,0  $\mu\text{mol g}^{-1}$  (Figura 18).



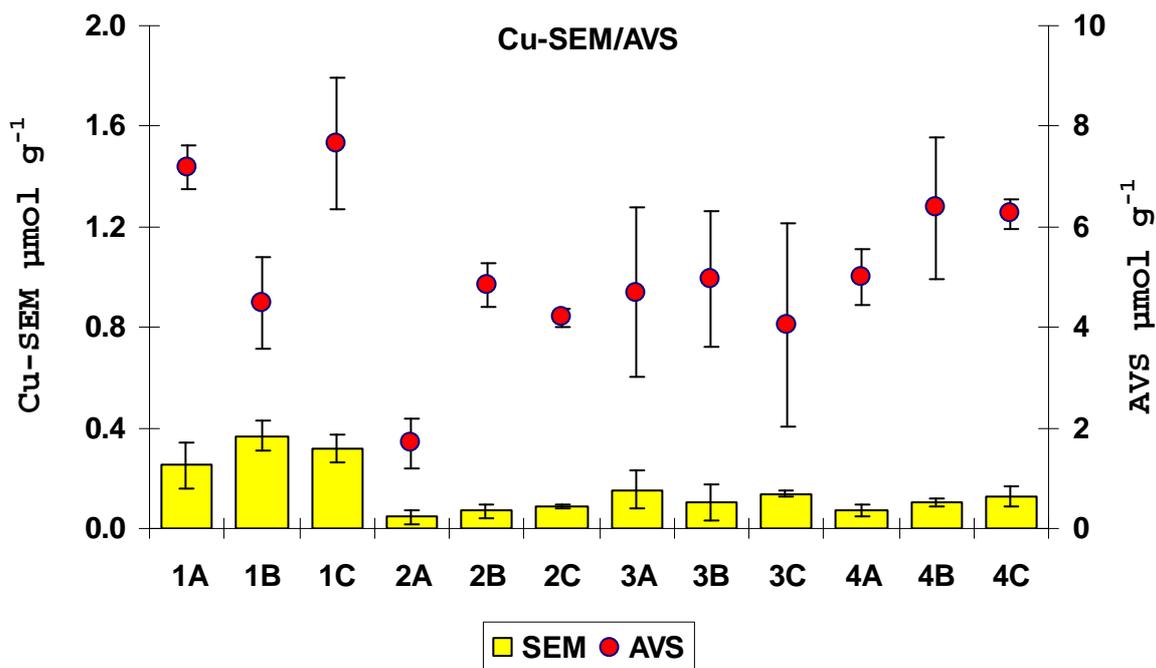
**Figura 18** Confronto tra le concentrazioni di Cd-SEM e gli AVS espresse in  $\mu\text{mol g}^{-1}$  (medie  $\pm$  errore standard).

In ogni caso le concentrazioni di Cd-SEM risultano essere molto basse, anche nell'area 1, in linea con quanto ritrovato con il contenuto di metallo 'pseudo totale'. In altre zone tipo fiumi, sono state riscontrate concentrazioni che variano da 0,001  $\mu\text{mol g}^{-1}$  (Svezia, Danimarca) a 0,073  $\mu\text{mol g}^{-1}$  (Inghilterra) (Burton et al., 2006). Lo studio di Van den Hoop et al. (1997) ha analizzato sedimenti olandesi d'acqua dolce e marini riscontrando concentrazioni di Cd che variano in un range di 0,001 e 0,067  $\mu\text{mol g}^{-1}$ .

Per quello che riguarda i potenziali effetti negativi sul biota residente, le basse concentrazioni di Cd in relazione alle concentrazioni di AVS misurate, restituiscono un rapporto Cd-SEM/AVS molto inferiore a 1, per il quale tali effetti non sono previsti (**Tabella 8**; vedi allegato).

Le concentrazioni più elevate di Cu (0,38 - 0,44  $\mu\text{mol g}^{-1}$ ) negli estratti di sedimento con HCl 6 M, che rappresentano la frazione

biodisponibile del metallo (SEM), si ritrovano nei sedimenti dell'area 1, associate a valori di solfuri (AVS) che variano da 3,5 a 9,2  $\mu\text{mol g}^{-1}$ . Nelle restanti aree (2, 3, 4) della Pialassa Baiona i valori di Cu-SEM si mantengono più bassi, all'interno di un intervallo di variazione di 0,02-0,23  $\mu\text{mol g}^{-1}$ , mentre gli AVS variano da 1,4 a 8,0  $\mu\text{mol g}^{-1}$  (**Figura 19**).



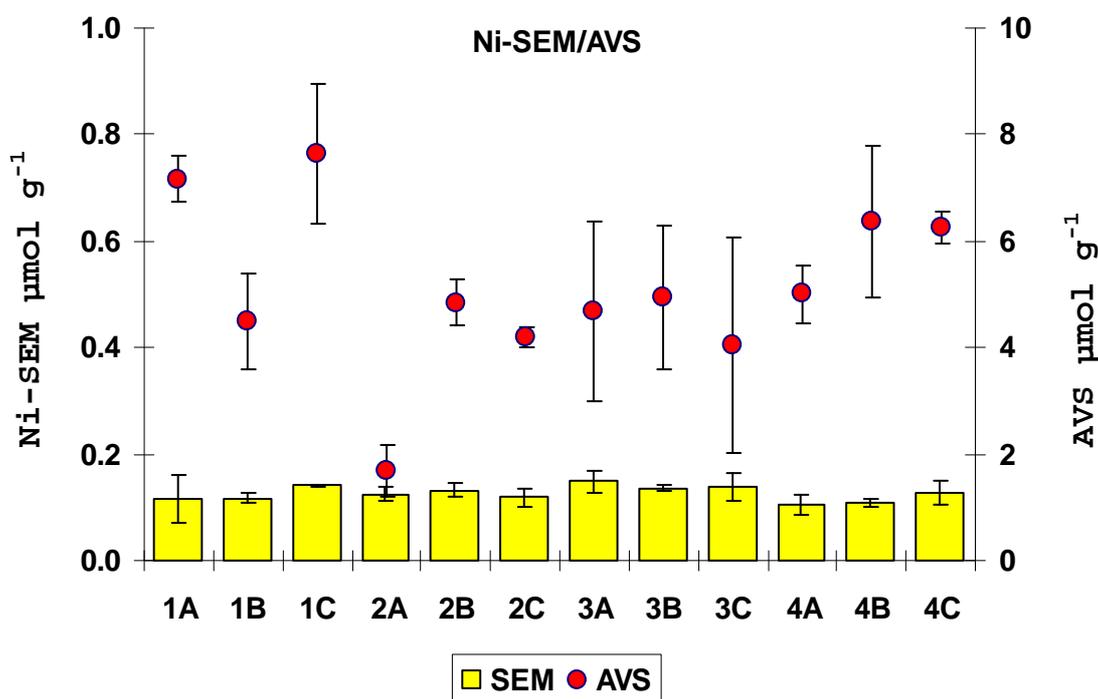
**Figura 19** Confronto tra le concentrazioni di Cu-SEM e gli AVS espresse in  $\mu\text{mol g}^{-1}$  (medie  $\pm$  errore standard).

Le concentrazioni di Cu-SEM risultano essere molto basse, anche nell'area 1, rispetto al contenuto di metallo 'pseudo totale'. In altre zone tipo fiumi, sono state riscontrate concentrazioni che variano da 0,004  $\mu\text{mol g}^{-1}$  (Francia) a 0,653  $\mu\text{mol g}^{-1}$  (Finlandia) (Burton et al., 2006). Nei sedimenti di acqua dolce e salata campionati in diversi siti olandesi, sono state riscontrate concentrazioni di Cu che variano da 0,01 a 0,78  $\mu\text{mol g}^{-1}$  (Van den Hoop et al., 1997).

Per quello che riguarda i potenziali effetti negativi sul biota residente, le basse concentrazioni di Cu in relazione alle concentrazioni di AVS misurate, restituiscono un rapporto Cu-

SEM/AVS molto inferiore a 1 per il quale tali effetti non sono previsti (**Tabella 8**, vedi allegato).

Le concentrazioni di Ni negli estratti di sedimento con HCl 6 M, sono più o meno simili tra i vari campioni, variando da 0,07 a 0,17  $\mu\text{mol g}^{-1}$ ; non si evidenziano particolari zone con valori particolarmente superiori; gli AVS variano da 1,4 a 9,2  $\mu\text{mol g}^{-1}$  (**Figura 20**).

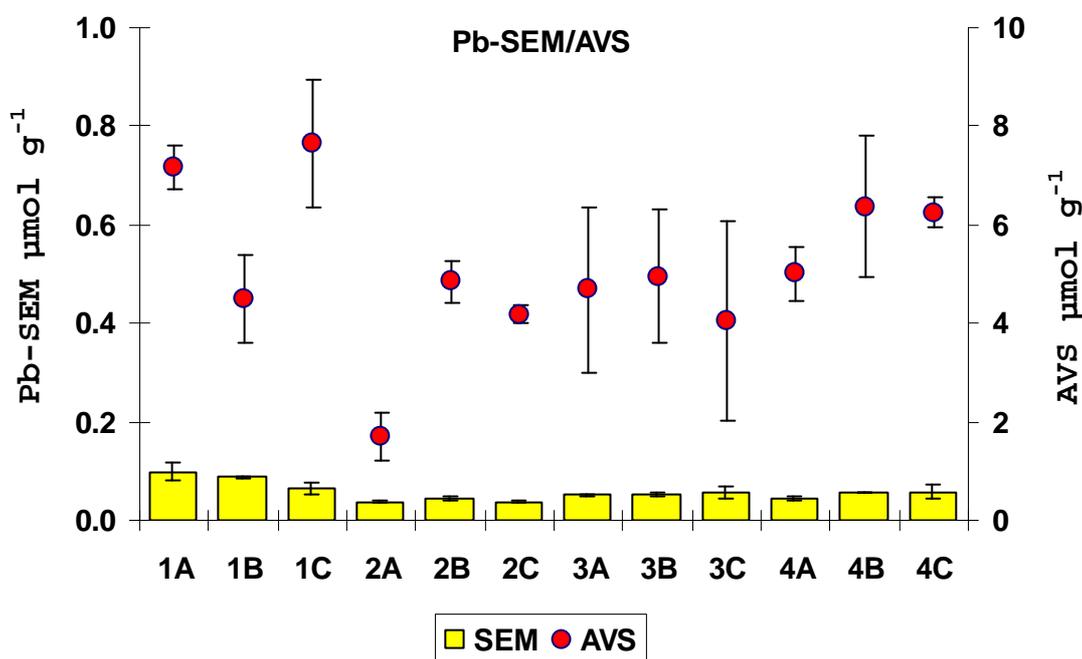


**Figura 20** Confronto tra le concentrazioni di Ni-SEM e gli AVS espresse in  $\mu\text{mol g}^{-1}$  (medie  $\pm$  errore standard).

Le concentrazioni di Ni-SEM risultano essere molto basse, anche nell'area 1, rispetto al contenuto di metallo 'pseudo totale'. In acque fluviali francesi sono state riscontrate concentrazioni che variano da 0,004  $\mu\text{mol g}^{-1}$  a 0,661  $\mu\text{mol g}^{-1}$  (Burton et al., 2006). Lo studio di Van den Hoop et al. (1997) ha riscontrato concentrazioni di Ni che variano da 0,01 a 0,46  $\mu\text{mol g}^{-1}$  nei sedimenti marini d'acqua dolce e salata.

Per quello che riguarda i potenziali effetti negativi sul biota residente, le basse concentrazioni di Ni in relazione alle concentrazioni di AVS misurate, restituiscono un rapporto Ni-SEM/AVS molto inferiore a 1 per il quale tali effetti non sono previsti (**Tabella 8**).

Le concentrazioni più elevate di Pb (0,12 - 0,08  $\mu\text{mol g}^{-1}$ ) negli estratti di sedimento con HCl 6 M, che rappresentano la frazione potenzialmente biodisponibile del metallo (SEM) si ritrovano nei sedimenti dell'area 1, associate a valori di solfuri (AVS) che variano da 3,5 a 9,2  $\mu\text{mol g}^{-1}$ . Nelle restanti aree (2, 3, 4) della Pialassa Baiona i valori di Pb-SEM si mantengono molto bassi, all'interno di un intervallo di variazione di 0,007 - 0,04  $\mu\text{mol g}^{-1}$ , mentre gli AVS variano da 1,4 a 8,0  $\mu\text{mol g}^{-1}$  (**Figura 21**).



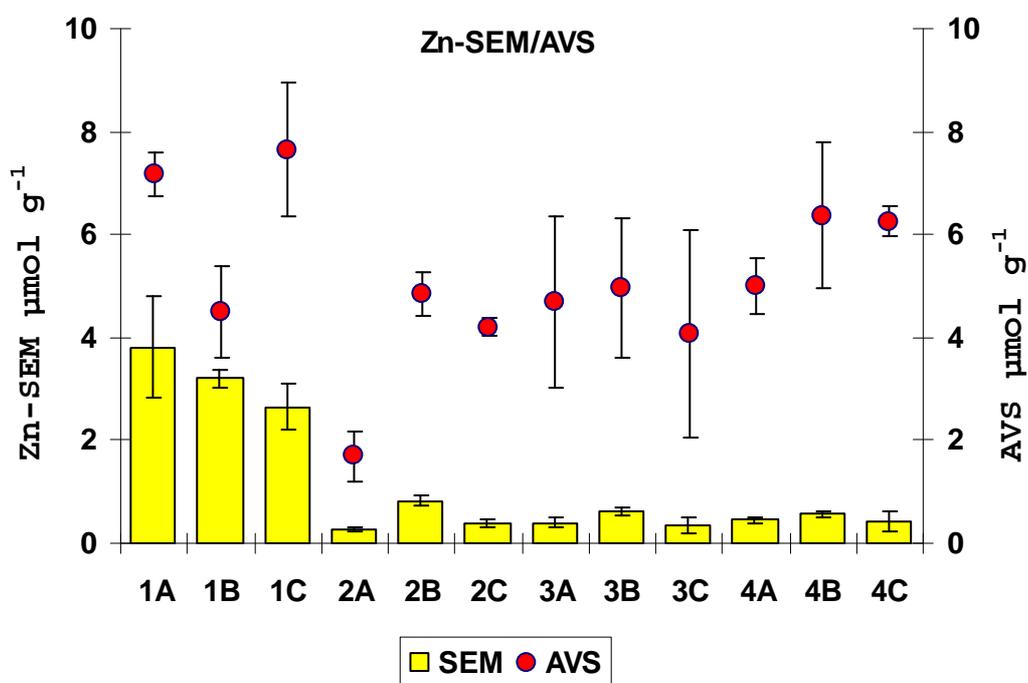
**Figura 21** Confronto tra le concentrazioni di Pb-SEM e gli AVS espresse in  $\mu\text{mol g}^{-1}$  (medie  $\pm$  errore standard).

Le concentrazioni di Pb-SEM risultano essere più basse rispetto al contenuto di metallo 'pseudo totale'. Nelle aree 2, 3 e 4 sono invece leggermente inferiori rispetto al contenuto dei metalli "pseudo totali", facendo presupporre una maggior frazione di Pb

legata ai solfuri per le aree 2, 3 e 4. In altre zone tipo fiumi, sono state riscontrate concentrazioni che variano da  $0,009 \mu\text{mol g}^{-1}$  (Finlandia) a  $0,76 \mu\text{mol g}^{-1}$  (Inghilterra) (Burton et al., 2006). In altre zone, come nei sedimenti marini olandesi (d'acqua dolce e salata) sono state riscontrate concentrazioni di Pb che variano da  $0,01$  a  $0,68 \mu\text{mol g}^{-1}$  (Van den Hoop et al., 1997)

Per quello che riguarda i potenziali effetti negativi sul biota residente, le basse concentrazioni di Pb in relazione alle concentrazioni di AVS misurate, restituiscono un rapporto Pb-SEM/AVS molto inferiore a 1 per il quale tali effetti non sono previsti (Tabella 8).

Le concentrazioni più elevate di Zn ( $4,7 - 2,1 \mu\text{mol g}^{-1}$ ) negli estratti di sedimento con HCl 6 M si ritrovano nei sedimenti dell'area 1, associate a valori di solfuri (AVS) che variano da  $3,5$  a  $9,2 \mu\text{mol g}^{-1}$ . Nelle restanti aree (2, 3, 4) della Pialassa Baiona i valori di Zn-SEM si mantengono più bassi, all'interno di un intervallo di variazione di  $0,2 - 0,9 \mu\text{mol g}^{-1}$ , mentre gli AVS variano da  $1,4$  a  $8,0 \mu\text{mol g}^{-1}$  (**Figura 22**).



**Figura 22** Confronto tra le concentrazioni di Zn tra i SEM e gli AVS espresse in  $\mu\text{mol g}^{-1}$  (medie  $\pm$  errore standard)

Le concentrazioni di Zn-SEM sono generalmente poco più basse rispetto alle concentrazioni del metallo "pseudo totale". Si può ipotizzare che una buona parte dello Zn è legata ai solfuri labili e quindi è potenzialmente biodisponibile per il biota residente nel sedimento. Altri studi hanno riportato che nelle zone fluviali le concentrazioni variano da 0,11  $\mu\text{mol g}^{-1}$  (Finlandia) a 12,4  $\mu\text{mol g}^{-1}$  (Inghilterra) (Burton et al., 2006). Nei sedimenti marini olandesi, sono invece state riscontrate concentrazioni di Zn in un range tra 0,13  $\mu\text{mol g}^{-1}$  e 12  $\mu\text{mol g}^{-1}$  (Van den Hoop et al., 1997).

Per quello che riguarda i potenziali effetti negativi sul biota residente, nell'area 1, lo Zn presenta concentrazioni poco inferiori rispetto a quelle degli AVS, con rapporti di Zn-SEM/AVS che variano da 0,3 a 0,7. Questo ci fa presupporre che lo Zn è l'elemento che influenza maggiormente il rapporto  $\Sigma\text{SEM/AVS}$ . Nelle altre aree (2, 3 e 4) il rapporto Zn-SEM/AVS varia invece da 0,1 a 0,2.

Per quanto riguarda le concentrazioni ritrovate di AVS, queste sono risultate confrontabili con quelle di un altro studio sui sedimenti di acqua dolce (Ankley et al., 1996; Besser J.M. et al., 1995) e sui sedimenti di altre lagune costiere (Como S. et al., 2007; Magni P. et al., 2008). Valori più elevati sono stati invece ritrovati da Hinkey e Zaidi (2007) nei sedimenti marini delle isole vergini americane. Covelli et al. (2011) hanno evidenziato che i sedimenti della Pialassa Baiona durante il periodo estivo presentano condizioni riducenti associate alla presenza di batteri solfato riduttori e alla produzione di solfuro.

In ultima analisi, si possono fare alcune considerazioni confrontando i risultati relativi al contenuto dei metalli bivalenti (Cd, Cu, Ni, Pb, Zn) oggetto di questo lavoro di tesi (**Figura 17**). La frazione potenzialmente biodisponibile del Cd (Cd-SEM) corrisponde mediamente all'80 % del contenuto pseudo totale del metallo nei sedimenti della laguna. Il Cu e il Ni

presentano invece una percentuale di circa il 30 %, mentre il Pb e lo Zn al 70 % e 40 % rispettivamente. Si può perciò concludere che il Cd e il Pb sono i metalli che tendono maggiormente a legarsi con gli AVS, in linea con i valori di Kps riportati in **Figura 11**. Considerato che il Cu ha il valore di Kps più basso rispetto agli altri metalli, dovrebbe essere il metallo con una percentuale di Cu-SEM maggiore rispetto agli altri; bisogna però tenere in considerazione quanto riportato precedentemente in relazione allo studio di Brumbaugh e Arms (1996), ovvero che il Cu tende a dare precipitati insolubili in presenza di pH molto acidi. L'affinità dei metalli a legarsi con gli AVS segue l'andamento dei valori di Kps riportati in **Figura 11**.

#### **4.3 Analisi di correlazione tra le variabili**

Tutte le variabili metalli pseudo totali,  $\Sigma$ SEM e AVS, sono positivamente correlate alla concentrazione di sostanza organica nei sedimenti della Pialassa Baiona (**Tabella 9**, vedi allegato). In conclusione, dalla matrice di correlazione possiamo constatare che esiste una correlazione positiva e altamente significativa tra la variabile LOI e gli AVS. Questo tipo di correlazione è stata evidenziata anche in altri studi (Lourino-Cabana et al., 2011; Nguyen et al., 2010) e negli ultimi lavori viene inoltre presa in considerazione nel calcolo della biodisponibilità dei metalli insieme agli AVS e  $\Sigma$ SEM. L'unico elemento che non mostra alcuna correlazione con la LOI è il Ni, sia pseudo totale che Ni-SEM (**Tabella 9**, vedi allegato). Questo potrebbe essere dovuto al fatto che la maggior parte del Ni è legato alla frazione più stabile dei sedimenti e quindi non alla materia organica.

#### **4.4 Distribuzione geografica dei metalli pseudo totali, SEM e AVS nei sedimenti della Pialassa Baiona**

La concentrazione di Cd pseudo totale (**Figura 17**) non mostra differenze significative tra i siti di campionamento all'interno dell'interazione tra i due fattori principali ( $S_i(D_m \times D_i)$ ) indicando così la presenza di omogeneità tra i siti appartenenti alla stessa area di campionamento (**Tabella 10**). La distribuzione

del Cd sembra invece risentire degli effetti combinati derivanti dall'interazione tra la distanza dal disturbo e la distanza dal mare ( $D_m \times D_i$ ). Considerando quindi le aree vicine al mare, i risultati dei test non evidenziano differenze significative nel contenuto di Cd pseudo totale tra l'area vicina al disturbo (area 2) e quella distante (area 3). Analizzando invece le aree lontane dal mare, differenze altamente significative sono state riscontrate tra l'area 1 (vicino al disturbo) e l'area 4 (lontana dal disturbo) indicando una concentrazione inferiore su quest'ultima area; questo comporta che vicino al mare, il fattore "disturbo antropico" non influenza le concentrazioni del metallo mentre lontano dal mare determina una differenza tra le due aree.

Considerando invece le aree vicine al disturbo (area 1 e area 2), i dati evidenziano che esiste una differenza altamente significativa tra le concentrazioni di Cd; nello specifico la concentrazione nell'area 1 è molto più alta rispetto all'area 2. Per distanze maggiori dal disturbo (area 3 e area 4) la distanza dal mare non ha alcuna influenza e le concentrazioni di Cd tra le due aree sono paragonabili tra loro.

**Tabella 10** Tavola di ANOVA per la concentrazione del metallo totale Cd (dati trasformati con la funzione  $\sqrt[3]{\phantom{x}}$  per ottenere l'omogeneità delle varianze).

<b>Sorgente di variabilità</b>	<b>SS</b>	<b>DF</b>	<b>MS</b>	<b>F</b>	<b>P</b>	<b>F versus</b>
<b>Dm</b>	0.3327	1	0.3327	29.45	0.0006	Si(DmXDi)
<b>Di</b>	0.1909	1	0.1909	16.9	0.0034	Si(DmXDi)
<b>DmXDi</b>	0.1518	1	0.1518	13.44	0.0063	Si(DmXDi)
<b>Si(DmXDi)</b>	0.0904	8	0.0113	1.73	0.1425	RES
<b>Residua</b>	0.1567	24	0.0065			
<b>Totale</b>	0.9226	35				

Il Cu pseudo totale (**Figura 17**) ha una distribuzione molto eterogenea a piccola scala spaziale, come testimoniano le differenze significative tra i siti all'interno delle aree (**Tabella 11**).

**Tabella 11** Tabella ANOVA per la concentrazione del Cu pseudo totale (dati trasformati con la funzione  $\sqrt{x+1}$  per ottenere l'omogeneità delle varianze).

Sorgente di variabilità	SS	DF	MS	F	P	F versus
Dm	207.153	1	207.153	22.72	0.0014	Si(DmXDi)
Di	208.569	1	208.569	22.88	0.0014	Si(DmXDi)
DmXDi	339.445	1	339.445	37.23	0.0003	Si(DmXDi)
Si(DmXDi)	72.933	8	0.9117	6.62	0.0001	RES
RES	33.075	24	0.1378			
TOT	861.175	35				

Il Cu pseudo totale risente dell'effetto combinato tra i due fattori (Dm x Di); l'andamento delle concentrazioni dovuto dagli effetti combinati dei due fattori principali (Di e Dm) è lo stesso descritto per il Cd pseudo totale.

Il Ni pseudo totale (**Figura 17**) ha evidenziato un'elevata omogeneità a piccola scala spaziale (Si(DmXDi)  $P > 25\%$ ); questo ci consente di potenziare l'analisi statistica, escludendo tra i fattori quello relativo alle differenze tra i siti di campionamento all'interno delle diverse aree (**Tabella 12**). Per quanto riguarda l'interazione tra i due fattori (Dm x Di), questa è risultata significativa.

**Tabella 12** Tabella ANOVA per la concentrazione del Ni pseudo totale (dati non trasformati).

Sorgente di variabilità	SS	DF	MS	F	P	F versus
Dm	3.707.452	1	3.707.452	6.59	0.0169	RES
Di	2.486.137	1	2.486.137	4.42	0.0462	RES
DmXDi	2.914.628	1	2.914.628	5.18	0.0320	RES
*Si(DmXDi)	2.547.848	8	318.481			
Residuo	13.494.962	24	562.290			
Totale	25.151.026	35				

Il Ni pseudo totale risente dell'effetto combinato tra i due fattori (Dm x Di); entrando nel dettaglio si evidenzia un

andamento differente rispetto agli altri elementi. Nelle aree lontane dal mare, il fattore disturbo non ha alcuna influenza e le concentrazioni tra le aree 1 e 4 sono confrontabili tra loro, mentre nelle aree vicine al mare (area 2 e 3), le concentrazioni maggiori si riscontrano nell'area 3, ovvero quella più distante dal disturbo antropico. Considerando invece le aree vicine al disturbo (area 1 e 2), quelle che presentano una concentrazione significativamente maggiore sono quelle dell'area 1, mentre nelle aree distanti dal disturbo (area 3 e 4), le concentrazioni di Ni sono paragonabili tra loro.

Questo diverso tipo di andamento delle concentrazioni del Ni pseudo totale, differente da tutti gli altri metalli oggetto di studio, confermerebbe quanto detto in precedenza, ovvero che le quantità di Ni pseudo totale sono in realtà valori di fondo naturale e non derivanti da un impatto antropico.

L'andamento della concentrazione del Pb pseudo totale (**Figura 17**) mostra differenze significative tra i siti di campionamento all'interno dell'interazione tra i due fattori principali (Si(Dm x Di)), indicando così la presenza di eterogeneità tra i siti appartenenti alla stessa area di campionamento (**Tabella 13**).

**Tabella 13** Tabella ANOVA per la concentrazione del Pb pseudo totale (dati non trasformati).

<b>Sorgente di variabilità</b>	<b>SS</b>	<b>DF</b>	<b>MS</b>	<b>F</b>	<b>P</b>	<b>F versus</b>
<b>Dm</b>	2.931.264	1	2.931.264	9.66	0.0145	Si(DmXDi)
<b>Di</b>	1.918.578	1	1.918.578	6.32	0.0361	Si(DmXDi)
<b>DmXDi</b>	5.129.043	1	5.129.043	16.91	0.0034	Si(DmXDi)
<b>Si(DmXDi)</b>	2.426.858	8	303.357	7.06	0.0001	RES
<b>RES</b>	1.031.281	24	42.970			
<b>TOT</b>	13.437.024	35				

L'interazione tra i due fattori principali è altamente significativa e le concentrazioni del Pb mostrano lo stesso andamento descritto per il Cd. Considerando le aree vicine al mare (area 2 e 3), le concentrazioni sono paragonabili tra loro e

quindi la distanza dal disturbo non ha alcuna influenza nella concentrazione di Pb, mentre per le aree lontane dal mare (area 1 e 4), le concentrazioni maggiori si sono riscontrate nell'area 1, ovvero in quella più vicina al disturbo antropico. Considerando invece le aree vicine al disturbo (area 1 e 2), le concentrazioni maggiori si riscontrano nell'area 1, ovvero quella più distante dal mare, mentre per le aree più distanti dal disturbo (area 3 e 4) le concentrazioni di Pb sono paragonabili tra loro, indipendentemente dalla distanza dal mare.

L'andamento di Zn pseudo totale è riportato in **Figura 17**. La differenza tra i siti di campionamento all'interno dell'interazione tra i due fattori principali (Si(Dm x Di)) è risultata altamente significativa, indicando così la presenza di eterogeneità tra i siti appartenenti alla stessa area di campionamento (**Tabella 14**).

**Tabella 14** Tabella ANOVA per la concentrazione dello Zn pseudo totale (dati trasformati con la funzione  $\sqrt{x+1}$  per ottenere l'omogeneità delle varianze).

Sorgente di variabilità	SS	DF	MS	F	P	F versus
Dm	1.572.425	1	1.572.425	26.99	0.0008	Si(DmXDi)
Di	1.313.170	1	1.313.170	22.54	0.0014	Si(DmXDi)
DmXDi	1.562.913	1	1.562.913	26.83	0.0008	Si(DmXDi)
Si(DmXDi)	465.999	8	58.250	9.92	0.0000	RES
Residuo	140.938	24	0.5872			
<b>Totale</b>	<b>5.055.445</b>	<b>35</b>				

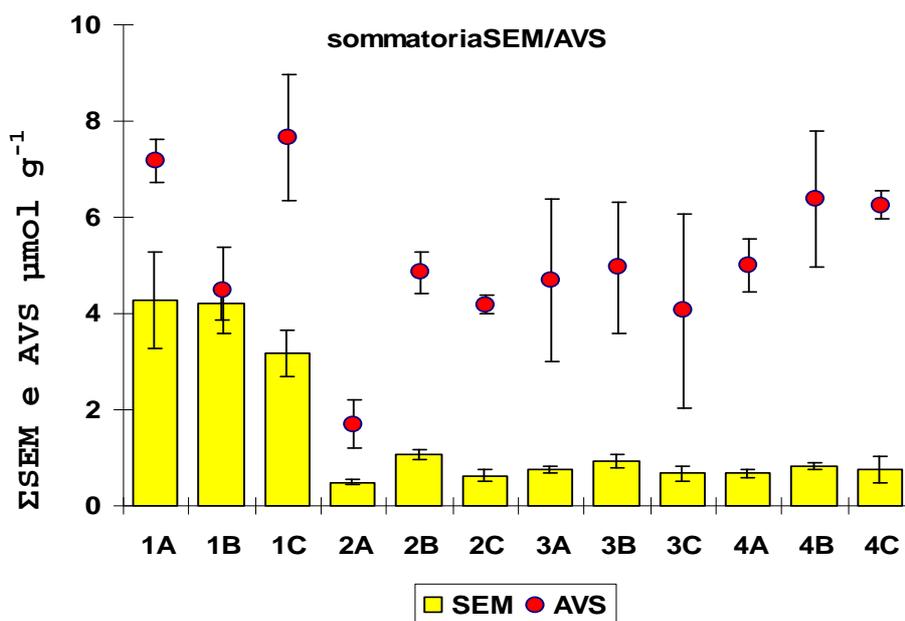
L'interazione tra i fattori (Dm x Di) è risultata altamente significativa, indicando una stretta correlazione tra i fattori disturbo antropico e distanza dal mare. Per quanto riguarda le concentrazioni nelle diverse aree, queste seguono lo stesso andamento descritto per il Cd, il Cu e il Pb.

Per quanto riguarda la  $\Sigma$ SEM (Cd-SEM + Cu-SEM + Ni-SEM + Pb-SEM + Zn-SEM (**Figura 23**), le medie dei siti all'interno delle aree (Si(Dm x Di)) sono risultate essere eterogenee tra loro e la combinazione tra i due

fattori (Dm x Di) è risultata significativa (**Tabella 15**). L'andamento dei  $\Sigma$ SEM segue lo stesso tipo di andamento descritto per il Cd, il Cu, il Pb e lo Zn pseudo totali.

**Tabella 15** Tabella ANOVA per la concentrazione dei  $\Sigma$ SEM (dati trasformati con la funzione  $\sqrt[3]{\phantom{x}}$  per ottenere le l'omogeneità delle varianze).

Sorgente di variabilità	SS	DF	MS	F	P	F versus
Dm	0.9333	1	0.9333	53.31	0.0001	Si(DmXDi)
Di	0.8412	1	0.8412	48.05	0.0001	Si(DmXDi)
DmXDi	10.160	1	10.160	58.04	0.0001	Si(DmXDi)
Si(DmXDi)	0.14	8	0.0175	4.22	0.0029	RES
RES	0.0996	24	0.0041			
TOT	30.301	35				



**Figura 23** Andamento delle concentrazioni di  $\Sigma$ SEM espresse in  $\mu\text{mol g}^{-1}$  in relazione all'andamento degli AVS in  $\mu\text{mol g}^{-1}$

Per quanto riguarda gli AVS, il loro andamento è riportato in relazione all'andamento dei metalli-SEM nelle **Figure 18, 19, 20, 21, 22**. La differenza tra le medie dei siti all'interno delle aree è risultata altamente significativa **Tabella 16**.

**Tabella 16** Tabella ANOVA per la concentrazione degli AVS (dati non trasformati).

<b>Sorgente di variabilità</b>	<b>SS</b>	<b>DF</b>	<b>MS</b>	<b>F</b>	<b>P</b>	<b>F versus</b>
<b>Dm</b>	390.403	1	390.403	8.07	0.0218	Si(DmXDi)
<b>Di</b>	0.4183	1	0.4183	0.09	0.7762	Si(DmXDi)
<b>DmXDi</b>	53.855	1	53.855	1.11	0.3221	Si(DmXDi)
<b>Si(DmXDi)</b>	386.903	8	48.363	4.06	0.0036	RES
<b>RES</b>	286.216	24	11.926			
<b>TOT</b>	1.121.560	35				

L'interazione tra i due fattori (Dm x Di) non è risultata significativa. Il fattore che determina l'andamento degli AVS è sostanzialmente la "distanza dal mare", con valori maggiori lontano dal mare. Lo stesso tipo di dipendenza delle concentrazioni dalla distanza dal mare, è stato riscontrato per lo zolfo totale in un precedente lavoro di tesi (Bonaiuti, 2011). Questo andamento è in linea con il fatto che le aree più interne sono quelle soggette ad un minor ricambio d'acqua, e quindi alla presenza di una minor concentrazione di ossigeno, mentre le aree più vicine al mare sono quelle con un ricambio di acqua maggiore quindi con una maggior concentrazione di ossigeno.

Per quanto riguarda l'andamento delle concentrazioni dei metalli pseudo totali, questi hanno mostrato tutti (ad esclusione del Ni) lo stesso andamento, evidenziando che l'area che si trova vicino al disturbo antropico e distante dal mare (area 1 ), presenta una concentrazione significativamente maggiore di tutti i metalli oggetto di studio. Le aree che invece si trovano prossime al mare e lontane dal disturbo, sono quelle che presentano concentrazioni minori, probabilmente dovute nel primo caso al maggiore ricambio delle acque, mentre nel secondo caso, alla maggiore distanza dagli scarichi che possono aver immesso i metalli nella laguna.

Il diverso andamento del Ni, si ritiene dipenda dal fatto che i valori riscontrati in questo studio, possono essere definiti di fondo naturale e quindi non dovuti dalla presenza del disturbo antropico.

## 5. CONCLUSIONI

I risultati del contenuto totale e della frazione biodisponibile (SEM) dei metalli (Cd, Cu, Ni, Pb e Zn) hanno mostrato una distribuzione eterogenea su piccola scala spaziale (siti distanti decine di metri all'interno della medesima area di studio). L'area più prossima alla zona industriale e al contempo più lontana dall'effetto del ricambio delle acque e di dilavamento ad opera del mare (area 1), è risultata quella con livelli significativamente più elevati per la maggior parte dei metalli analizzati (Cd, Cu, Pb e Zn). I livelli e la distribuzione spaziale di questi metalli ha mostrato una significativa diminuzione passando da quest'area verso le aree più vicine all'effetto del mare (area 2 e 3) ed allo stesso tempo rispetto alle aree più lontane dalle sorgenti di disturbo antropico (area 3 e 4). Questo permette di ipotizzare una influenza diretta delle sorgenti di inquinanti, più intense in passato, ma anche un effetto dispersivo della circolazione.

Per quanto riguarda i livelli e la distribuzione spaziale degli AVS, dall'analisi statistica è stato evidenziato un gradiente terra-mare; questo significa che nelle zone più prossime all'influenza del mare si sono riscontrate concentrazioni minori di AVS.

Per quanto riguarda il Ni le concentrazioni ritrovate sono comprese tra il valore di TEL (*Threshold Effect Level*) e PEL (*Probable Effect Level*); ciò significa che vi è un'eventuale probabilità che gli organismi mostrino degli effetti negativi a seguito dell'esposizione ai sedimenti.

In realtà, il Ni è stato l'unico metallo che ha mostrato una distribuzione spaziale omogenea tra le aree facendo presupporre che non sia influenzato dalla presenza della zona industriale e dalla vicinanza o meno dal mare. Infatti i valori ritrovati in questo studio sono simili a quelli tipici di fondo naturale del Mare Adriatico, e quindi non derivanti da una sorgente antropica.

Il Cd, il Pb e lo Zn mostrano concentrazioni inferiori al valore di TEL per quanto riguarda le aree 2, 3 e 4; diverso è il discorso per l'area 1 dove i tre metalli superano in alcuni siti, il valore di TEL. Per lo Zn, all'interno dell'area 1, si può inoltre evidenziare la presenza di un sito nel quale è stato superato anche il valore di PEL; ci sono perciò elevate probabilità che si riscontrino effetti negati sul biota a causa di questo metallo.

Per quanto riguarda i metalli estraibili simultaneamente (SEM) si può concludere che il Ni, il Cu e lo Zn sono quei metalli che risultano meno legati ai solfuri labili (AVS) e quindi sono potenzialmente meno biodisponibili per il biota; il Cd-SEM e il Pb-SEM sono invece maggiormente legati alla frazione labile (AVS) e quindi potenzialmente più biodisponibili a seguito di variazioni delle condizioni di equilibrio del sistema. In base a questi risultati, l'area vicino alla sorgente di disturbo antropico (area 1) richiede una maggiore attenzione in quanto gli organismi residenti potrebbero manifestare effetti negativi per via delle elevate concentrazioni dei metalli.

Per quanto concerne gli AVS, considerando i metalli-SEM singolarmente, il rapporto metallo-SEM/AVS è al di sotto del valore 1 per tutti i siti in tutte le aree; anche considerando la  $\Sigma$ SEM, il rapporto sopra menzionato non supera il valore di 1, se non per un unico sito (area 1, sito B) per il quale si ha un leggero e locale superamento di tale valore.

Vista la ridotta mobilità dei metalli bivalenti analizzati, si può concludere che gli organismi presenti nel sedimento sono probabilmente poco soggetti ad effetti avversi come invece si poteva presupporre confrontando i valori di concentrazione dei metalli pseudo totali con i valori di riferimento TEL e PEL.

In quest'ottica, i valori dei metalli-SEM e degli AVS indicano che non vi è un potenziale rischio nei confronti del biota acquatico nonostante l'elevato contenuto totale di alcuni metalli.

In ogni caso, si deve considerare che questo lavoro di tesi rappresenta la situazione della Pialassa Baiona durante il periodo tardo primaverile, caratterizzato soprattutto nell'area vicino al sito industriale, da elevati livelli di fitoplancton e batterio plancton.

Sviluppi futuri di questa ricerca potrebbero riguardare la valutazione della biodisponibilità di Cd, Cu, Ni, Pb e Zn in altri periodi temporali caratterizzati da altre condizioni di ossigenazione dei fondali, che potrebbero influenzare le condizioni redox dei sedimenti e mobilizzare questi metalli bivalenti con conseguenti effetti negativi sul biota.

Un ulteriore sviluppo della ricerca potrebbe riguardare la determinazione in tandem dei metalli biodisponibili e dei loro effetti negativi su organismi bentonici tipici della zona di indagine.

## **BIBLIOGRAFIA**

**Albert D., 1984.** Improved techniques for measurement of sulphate reduction and pyrite formation rates in sediments. Transactions-American Geophysical Union 45, 906.

**Alden R.W., and Young, R.J. 1982.** Open ocean disposal of materials dredged from highly industrialized estuary: and evaluation of potential lethal effects Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 11: 567-576.

**Allen H.E., Fu G., Deng B., 1993.** Analysis of acid-volatile sulfide (AVS) and simultaneously extracted metals (SEM) for the estimation of potential toxicity in aquatic sediments. Environmental Toxicology and Chemistry 12, 1-13.

**Aller R.C., 1977.** The influence of macrobenthos on chemical diagenesis of marine sediments. PhD dissertation Thesis, Yale, New Haven, CT. 600 pp.

**Alongi D.M. 1998.** Coastal ecosystem processes. Boca Raton, Florida: CRC Press.

**Anconelli M.T., Baldrati C., Vandini W., 1980.** Studio composito sull'inquinamento da mercurio ed altri oligoelementi delle valli ravennati (Pialasse). Acqua-Aria, 10:1323-1331.

**Ankley G.T., Phipps G.L., Leonard E.N., Benoit D.A., Mattson V.R., Kosian P.A., Cotter A.M., Dierkers J.R., Hansen D.J., Mahony J.D., 1991.** Acid volatile sulfide as a factor of mediating cadmium and nickel bioavailability in contaminated sediments. Environmental Toxicology and Chemistry, 10:1299-1307.

**Ankley G.T., Liber K., Call D.J., Markee T.P., Canfield T.J., Ingersoll C.G., 1996.** A field investigation of the relationship between zinc and acid volatile sulfide concentrations in freshwater sediments. *Journal of Aquatic Ecosystem Health*, 5:255-264.

**Ascani C., Sangiorgi F., Gabbianelli G., 2003.** Geomorphological evolution of a lagoon system: the Pialassa Baiona (Ravenna, Italy). Proceedings of the Sixth International Conference on the Mediterranean Coastal Environment, MEDCOAST 03, Ravenna, Italy, 7-11 October 2003, Middle East Technical University

**Babukutty Y. e Chacko J. 1995.** Chemical partitioning and bioavailability of lead and nickel in an estuarine system. *Environmental Toxicology chemistry*; 14(£):427-34.

**Bagarinao T., 1992.** Sulfide as an environmental factor and toxicant: Tolerance and adaptations in aquatic organisms. *Aquat Toxicol* 24:21-62.

**Ballardini D., Setti R., Minghetti A., Amadori A., Pezzi A., 1994.** Indagine sui sedimenti, dal libro: "Analisi dello stato ambientale e sanitario nelle valli ravennati", Capitolo 8: 326-354.

**Baudin F., Tribovillard N., Laggoun-Defarge F., Lichtfouse E., Monod O., Gardin S., 1999.** Depositional environment of a Kimmeridgian carbonate "black band" (Akkuyu Fm., SW Turkey). *Sedimentology* 46, 589-602.

**Berner R.A., 1962.** Iron sulfides formed from aqueous solution at low temperatures and atmospheric pressure. *Journal of Geology* 72, 293-306.

**Berner R.A., 1967.** Thermodynamic stability of sedimentary iron sulfides. *Am. J. Sci* 265: 773-785

**Berner R.S., Baldwin T., Holdren Jr. G.R., 1979.** Authigenic iron sulfides as paleosalinity indicators. *Journal of Sedimentary Petrology* 49, 1345-1350.

**Berry W.J., Hansen D.J., Mahony J.D., Robson D.L., Di Toro D.M., Shipley B.P., Corbin J.M., Boothman W.S., 1996.** Predicting the toxicity of meta-spiked laboratory sediments using acid-volatile sulfide and interstitial water normalizations. *Environmental Toxicology and Chemistry* 15, 2067-2079.

**Besser J.M., Ingersoll C.G., Giesy J.P., 1995.** Effects of spatial and temporal variation of acid volatile sulfide on the bioavailability of copper and zinc in freshwater sediments. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 15: 286-293.

**Bonaiuti S. 2011** Distribuzione e biodisponibilità dei metalli in traccianei sedimenti della Pialassa Baiona. Laurea in Scienze per l'Ambiente. Facoltà di Scienze Matematiche Fisiche e Naturali. 2009-2010.

**Boyer J.N., Fourqurean J.W., Jones R.D. 1999.** Seasonal and long-term trends in the water quality of Florida Bay (1989-1997). *Estuaries* 22(2B): 417-430.

**Broderius S.J., Smith L.L., Lond D.T., 1977.** Relative toxicity of free cyanide and dissolved sulfide forms to the fathead minnow (*Pimephale promelas*). J Fish Res Board Can 34:2323-2323.

**Bronwyn L. L., Andrew J.S., Anne S.P., Ian S., 2007.** A study of metal and metalloid contaminant availability in Antarctic marine sediments. Chemosphere 67: 1967-1974.

**Brouwer H., Murphy T., 1995.** Volatile Sulfides and their toxicity in freshwater sediments. Environmental Toxicology and Chemistry, vol. 14: 203-208.

**Brumbaugh W.G., Arms J.W., 1996.** Quality control considerations for the determination of acid-volatile sulfide and simultaneously extracted metals in sediments. Environmental Toxicology and Chemistry 15, 282-285.

**Buchman M.F., 2008.** NOAA Screening Quick Reference Tables, NOAA OR&R Report 08-1, Seattle WA, Office of Response and Restoration Division, National Oceanic and Atmospheric Administration, 34 pages.

**Buffle J., De Vitre R.R., Perret D., Leppard G.G., 1988.** Combining field measurements for speciation in non perturbable waters. In: Kramer Jr., J.R., Allen, H.E (Eds.), Metal Speciation: Theory, Analysis and Application. Lewis Publishers Inc., pp. 99-124.

**Burton G.A., Green A., Baudo R., Forbes V., Nguyen L.T.H., Janssen C.R., Kukkonen J., Leppanen M., Maltby L., Soares A., Kapo K., Preston S., Dunning J., 2006.** Characterizing sediment acid volatile sulfide concentrations European in streams. Environmental Toxicology and Chemistry, vol 26, 1-12.

**Caetano M., Madureira M.J., Vale C. 2002.** Metal remobilisation during resuspension of anoxic contaminated sediment: short-term laboratory study. *Water Air Soil Pollution*; 143(1-4):23-40.

**Caldwell R.S., 1975.** Hydrogen sulfide effects on selected larva and adult marine invertebrates. Water Resources Research Institute, Oregon State University, Corvallis, OR, USA.

**Campbell P.G.C., 1995.** Interactions between trace metals and aquatic organism: a critique of the free-ion activity model. In: Tessier, A., Turner, D.R (Eds.). *Metal Speciation and Bioavailability in Aquatic System*, Chichester, UK, pp.45-102.

**Chapman P.M., Dexter R.N., Long E.R. 1987.** Synoptic measures of sediments contamination, toxicity and infaunal community composition (the Sediment Quality Triad) in San Francisco Bay. *Marine Ecology Progress Series*, 37: 75-96.

**Colombo G., 1977.** Lagoons, Pp. 63-81, In: R.S.K.Barnes (ed.), *The coastline*. London: Jhon Wiley & Sons.

**Como S., Magni P., Casu D., Floris A., Giordani G., Natale S., Fenzi G.A., Signa G., De Falco G., 2007.** Sediment characteristics and macrofauna distribution along a human-modified inlet in the Gulf of Oristano (Sardinia, Italy). *Marine Pollution Bulletin*, 54: 733-744.

**Cornwell J.C., Morse J.W., 1987.** The characterization of iron sulfide minerals in marine sediments. *Marine Chemistry* 22, 193-206.

**Covelli S., Emili A., Acquavita A., Koron N., Faganeli J., 2011.** Benthic biogeochemical cycling of mercury in two contaminated

northern Adriatic coastal lagoons. *Continental Shelf Research*, 31: 1777-1789.

**Davies-Colley R.J., Nelson P.O., Williamson K.J., 1985.** Sulfide control of cadmium and copper concentrations in anaerobic estuarine sediments. *Marine Chemistry*. 16: 173-186.

**Davison W., 1980.** A critical comparison of the measured solubilities of ferrous sulphide in natural waters. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 44, 803-808.

**Davison W., Heaney S.I., 1980.** Determination of the solubility of ferrous sulfide in a seasonally anoxic basin. *Limnology and Oceanography* 25, 153-156.

**De Andrade Passos E., Alves J.C., Dos Santos I.S., Alves J.P.H, Garcia C.A.B., Spinola Costa A.C., 2010.** Assessment of trace metals contamination in estuarine sediments using a sequential extraction technique and principal component analysis. *Microchemical Journal*, 96: 50-57.

**De Lazzari A., Rampazzo G., Pavoni B., 2004.** Geochemistry of sediments in the Northern and Central Adriatic Sea. *Estuarine Coastal and Shelf Science*, 99: 429-440.

**Di Toro D.M., John D.M., David J.H., K. Jhon Scott, Michael B.H., Suzanne M.M., Michele S.R. 1990.** Toxicity of cadmium in sediments: the role of acid volatile sulfide. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 9: 1487-1502.

**Di Toro D.M., D., Mahony, J.D., Hansen, D.J., Scott, K.J., Carison, A.R., and Ankley, G.T. 1992.** Acid Volatile Sulfides

Predicts the acute Toxicity of Cadmium and Nickel in sediments. *Environmental Science and Technology*, 26 (1): 96-101.

**Di Toro D., Hansen D.J., McGrath J.M., Berry W.J., 2000.** Predicting the toxicity of metals in sediments using SEM and AVS. Draft in preparation.

**Donnini F., Dinelli E., Sangiorgi F., Fabbri E., 2007.** A biological and geochemical integrated approach to assess the environmental quality of coastal lagoon (Ravenna, Italy), *Environment International*, 33: 919-928.

**Duarte C.M., 1995.** Submerged aquatic vegetation in relation to different nutrient regimes. *Ophelia*, 41, 87, 1995.

**Eisma D., 1998.** Intertidal deposits: River mouths, tidal flats, and coastal lagoons. Boca Raton. Florida: CRC Press.

**Evans C.L., 1967.** The toxicity of hydrogen sulfide and other sulfides. *Q J Exp Physiol* 52:231-248.

**Fabbri D., Vassura I., Sun C.G., Snape C.E., McRae C., Fallick E., 2003.** Source apportionment of polycyclic aromatic hydrocarbons in a coastal lagoon by molecular and isotopic characterisation. *Marine Chemistry*, 84: 123-135.

**Gabbianelli G., Ascani C., Sangiorgi F., Ponti M., 2003.** Il sistema lagunare delle Pialasse ravennati (Baiona-Piomboni): lineamenti geomorfologici, sedimentologici ed evolutivi. In. Bologna C.U.d., Ravenna C.d (Eds.). La Pialassa della Baiona. Qualità dell'ambiente e attività di ricerca. Editrice La Mandragora, Imola (BO): 19-48.

**Gamito S., Gilabert J., Concepcion M.D., Pérez-Ruzafa A. 2005.** Effects of Changing Environmental Conditions on Lagoon Ecology. In: Coastal Laggons, Edited by Ethem Gonenc I., Wolflin J.P. CRC Press, Boca Raton, New York. Chap 5.

**Garzia G., 2003.** Il quadro di riferimento normativo. In. Bologna C.U.d., Ravenna C.d (Eds.). La Pialassa della Baiona. Qualità dell'ambiente e attività di ricerca. Editrice La Mandragora, Imola (BO): 61-67.

**Gerald T.A., Gary L.P., Edward N.L., Duane A. B., Vincent R.M. 1991.** Acid-Volatile Sulfide as a factor mediating cadmium and nickel bioavailability in contaminated sediments. Environmental Toxicology and Chemistry. 10: 1299-1307.

**Giordani G., Azzoni R., Viaroli P., 2008.** Analisi biogeochimiche condotte durante il progetto AIA. Dipartimento di Scienze ambientali, Università di Parma.

**Glibert P.M., Wazniak C.E., Hall M. and Sturgis B. 2007.** Seasonal and interannual trends in nitrogen in Maryland's Coastal Bays and relationships with brown tide. Ecoll. Appl. 17(5): S79-S87.

**Glibert P.M., Boyer J.N., Heil C.H., Madden C.J., Sturgis B. and Wazniak C.S. 2010.** Blooms in Lagoons: Different from Those of River-Dominated Estuaries. In: Coastal Lagoons, Edited by Kennish M.J. and Paerl H.W. CRC Press. Boca Raton, FL. Pp. 91-113.

**Goldhaber M.B., Kaplan I.R., 1974.** The sulphur cycle. In: The Sea, vol 5-Marine Chemistry (Editor ED Goldberg). John Wiley & Sons, New York, NY USA. Pp 569-655.

**Gonenc, I.E. and J.P.Wolflin (eds.). 2004.** Coastal lagoons: Ecosystem processes and modelling for sustainable use and development. Boca Raton, Florida: CRC Press.

**Guerra R. Pasteris A., Ponti M., Fabbri D., Bruzzi L., 2007.** Impact of dredging in a shallow coastal lagoon: Microtox® Basic Solid-Phase Test, trace metals and *Corophium* bioassay. Environmental International, 33: 469-473.

**Hagopian-Schlekat T., Chandler G.T., Shaw T.J. 2001.** Acute toxicity of five sediment-associated metals, individually and in a mixture, to the estuarine meiobenthic harpacticoid copepod *Amphiascus tenuiremis*. Marine Environmental Research. 247-264.

**Harlin M.M. 1995.** Changes in major plant groups following nutrient enrichment, in Eutrophic Shallow Estuaries and Lagoons. McComb A.J., Edition CRC Press, Boca Raton, FL, Chap 11.

**Herbert E. A. 1993** Analysis of acid-volatile sulfide (AVS) and simultaneously extracted metals (SEM) for the estimation of potential toxicity in aquatic sediments. Environmental Toxicology and Chemistry. 12: 1441-1453.

**Hinkey L.M., Zaidi B.R., 2007.** Differences in SEM-AVS and ERM-ERL predictions of sediment impacts from metals in two US Virgin Islands marinas. Marine Pollution Bulletin, 54: 180-185.

**Jones H.E., Trudinger P.A., Chambers L.A., Pylotis N.A., 1976.** Metal accumulation with particular reference to dissimilatory sulphate-reducing bacteria- Zeitschrift fur Allgemeine Mikrobiologie 16, 425-435.

**Kaplan I.R., Emery K., Rittenberg S., 1963.** The distribution and isotopic abundance of sulphur in recent marine sediments off Southern California. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 27, 297-331.

**Kemp P. F., Swartz R. C (1988)** Acute toxicity of interstitial and particle-bound cadmium to a marine infaunal amphipod. *Mar. Environ. Res.* 26, 135-153.

**Koltoff I.M., Sandell E.B., 1952.** Textbook of Quantitative Chemical Analysis. McMillan, New York. 159 pp.

**Kuang-Chung Yu, Li-Jyur Tsai, Shih-Hsiung Chen, Shien-Tsong Ho, 2001.** Chemical binding of heavy metals in anoxic river sediments. *Water Resources* Vol. 35, 17: 4086-4094.

**Landis H., Richard C., Miguel A.H.D. 1994.** A field study of metal toxicity and accumulation by benthic invertebrates; implications for the acid-volatile sulfide (AVS) model. *Limnol. Oceanogr.* 39: 1653-1668.

**Lasorsa B. and Casas A., (1996).** A comparison of sample handling and analytical methods for determination of acid volatile sulfides in sediment. *Marine Chemistry*, 52: 211-220.

**Lee J.S, Lee J.H., 2005.** Influence of acid volatile sulfides and simultaneously extracted metals on the bioavailability and toxicity of a mixture of sediment-associated Cd, Ni and Zn to polychaetas *Neanthes arenaceodentata*. *Science of the total Environment*, 338: 229-241.

**Louriño-Cabana B., Lesven L., Charriau A., Billon G., Ouddane B., Boughriet A., 2011.** Potential risk of metal toxicity in

contaminated sediments of Deule river in Northern France. *Journal of Hazardous Materials*, 186: 2129-2137.

**Luther G.W., Brendel P.J., Lewis B.L., Sundby B., Lefrancois L., Silverberg N., Nuzzio D.N., 1998.** Simultaneous measurement of  $O_2$ , Mn, Fe,  $I^-$ , and S(-II) in marine pore waters with a solid-state voltammetric microelectrode. *Limnology and Oceanography* 43, 325-333.

**Luther G.W., Reimers C.E., Nuzzio D.B., Lovalvo D., 1999.** In situ deployment of voltammetric, potentiometric, and amperometric microelectrodes from a ROV to determine dissolved  $O_2$ , Mn, Fe,  $S^{2-}$ , and pH in porewaters. *Environmental Science and Technology* 33, 4352-4356.

**Luther G.W., Glazer B.T., Hohmann L., Popp J.L., Taillefert M., Rozan T.F., Brendel P.J., Theberge S.M., Nuzzio D.B., 2001a.** Sulfur speciation monitored in situ with solid state gold amalgam voltammetric microelectrodes: polysulfides as a special case in sediments, microbial mats and hydrothermal vent waters. *Journal of Environmental Monitoring* 3, 61-66.

**Luther G.W., Rozan T.F., Taillefert M., Nuzzio D.B., Di Meo C., Shank T.M., R.A. and Cary S.C., 2001b.** Chemical speciation drives hydrothermal vent ecology. *Nature* 410, 813-816.

**Luther G.W., Glazer B., Ma S.F., Trouwborst R., Shultz B.R., Druschel G., Kraiyya C., 2003.** Iron and sulphur chemistry in a stratified lake: evidence for iron-rich sulfide complexes. *Aquatic Geochemistry* 9, 87-110.

**Magni P., Rajagopal S., Van der Velde G., Fenzi G., Kassenberg J., Vizzini S., Mazzola A., Giordani G., 2008.** Sediment features,

macrozoobenthic assemblages and trophic relationships ( $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{14}\text{N}$  analysis) following and dystrophic event with anoxia and sulphide development in the Santa Giusta lagoon (western Sardinia, Italy). *Marine Pollution Bulletin*, 52: 125-136.

**Martinelli L., Zanuttigh B., Lamberti A., 2003.** Idrodinamica del sistema delle "Pialasse" ravennati. In. Bologna C.U.d., Ravenna C.d (Eds.). La Pialassa della Baiona. Qualità dell'ambiente e attività di ricerca. Editrice La Mandragora, Imola (BO): 87-96.

**Melo S.L.R., Nipper M (2007),** Sediment toxicity tests using the burrowing amphipod *Tiburinella viscana* (Amphipoda: Platyschnopidae). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 66: 412-420.

**Millero F.J., Hubinger S., Fernandez M., Garnett S., 1987.** Oxidation of  $\text{H}_2\text{S}$  in seawater as a function of temperature, pH, and ionic strength. *Environmental Science and Technology* 27:439-448.

**Miron G., Kristensen E., 1993.** Factors influencing the distribution of nereid polychaetes: The sulfide aspect. *Mar Ecol Prog Ser* 93: 143-153.

**Miserocchi S., Frasari F., Guerzoni S., Langone L., 1990.** Inquinamento da Hg ed altri metalli pesanti (Pb, Cu, Zn) nei sedimenti delle valli ravennati: Pialasse della Baiona. *Acqua-Aria*, 4:361-370.

**Mongenot Th., Tribovillard N., Desprairies A., Lallier-Verges E., Maggoun-Defarge F., 1996.** Trace elements as paleoenvironmental markers in strongly mature hydrocarbon source rocks: the

Cretaceous la Luna Formation of Venezuela. *Sedimentary Geology* 103, 23-37.

**Morse J.W., Cornwell J.C., 1987.** Acid volatile sulfides and pyrite in recent anoxic marine sediments. *Marine Chemistry* 22, 55-69.

**Nguyen L.T.H., Burton G.A., Schlekot C.E., Janssen C.R., 2011.** Field measurement of nickel sediment toxicity: role of acid volatile sulfide. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 30: 162-172.

**Nixon S.W., Pilson M.E.Q. 1983.** Nitrogen in estuarine and coastal marine ecosystem, in *Nitrogen in the Marine Environment*, Crapenter E.J. and Cpone D.G., Edition Academic Press, Ney York, Chap. 16.

**Pesch C.E., Hansen D.J., Boothman W.S., Berry W.J., Mahony J.D., 1995.** The role of acid-volatile sulfide and interstitial water metal concentrations in determining bioavailability of cadmium and nickel from contaminated sediments to the marine polychaete *Neanthes arenaceodentata*. *Environmental Toxicology and Chemistry* 14, 129-141.

**Phleger F.B. 1969.** Some general features of coastal lagoons. Pp. 5-26, In: A. Ayala-Castaneres (ed.), *Lagunas costeras, un simposio*, Universidad Nacional Autonoma de Mexico, Mexico, DF.

**Ponti M., Casselli C., Abbiati M., 2011.** Anthropogenic disturbance and spatial heterogeneity of macrobenthic invertebrate assemblages in coastal lagoons: the study

case of Pialassa Baiona (northern Adriatic Sea).  
Helgoland Marine Research 65(1): 25-42.

**Prca M., Dalmacija B., Roncevic S., Krcmar D., Becelic M., 2008.**  
A comparison of sediment quality results with acid volatile sulfide (AVS) and simultaneously extracted metals (SEM) ratio in Vojvodina (Serbia) sediments. Science of the total environment, 389: 235-244.

**Razinkovas A., Gasiunate Z., Viaroli P., Zaldivar J.M. 2008.**  
Preface: European lagoons-need for further comparison across spatial and temporal scales. Hydrobiologia 611:1-4.

**Reddy K.R. and DeLaune R.D. 2008.** Sulfur. In: Biogeochemistry of Wetlands. Edited by Taylor & Francis Group, LLC. CRC Press, Boca Raton, London. Chapter: 447-476.

**Rickard D., 1969.** The microbiological formation of iron sulphides. Stockholm Contributions in Geology 20, 49-66.

**Rickard D. and Morse J.W. 2005.** Acid volatile sulfide (AVS). Marine Chemistry 97, 141-197.

**Rickard D., Oldroyd A., Cramp A., 1999.** Voltammetric evidence for soluble FeS complexes in anoxic estuarine muds. Estuaries 22, 693-701.

**Rosan T.F., Lassman M.E., Ridge D.P., Luther G.W., 2000.** Evidence for iron, copper and zinc complexation as multinuclear sulphide clusters in oxic rivers. Nature 406, 879-882.

**R.R. n. 29/1993.** Attrezzi e modalità di uso consentiti per la pesca. Periodi di divieto di pesca delle specie ittiche nelle acque interne dell'Emilia Romagna-Romagna.

**Sabetta L., Barbone E., Giardino A., Galuppo N., Basset A. 2007.** Species-area patterns of benthic macro-invertebrates in Italian lagoons. *Hydrobiologia* 577, 127-139.

**SIC. Direttiva 92/43/CEE.** Conservazione degli habitat naturali e seminaturali e della flora e della fauna selvatiche. 21 maggio 1992.

**Simpson S.L., 2001.** A rapid screening method for acid volatile sulfide in sediments. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 20: 2657-2661.

**Sims J.G., Moore D.W., 1995.** Risk of porewater hydrogen sulfide toxicity in dredged material bioassays. Miscellaneous Paper D.95-4. U.S. Army of Engineers Waterways Experiment Station Vicksburg, MS.

**Somero G.N., Childress J.J., Anderson A.E., 1989.** Transport, metabolism, and detoxification of hydrogen sulfide in animals from sulfide-rich marine environment. *CC Crit Rev Aquatic Sci* 1:591-614.

**Stanhope J. W., Anderson I. C., Reay W. G., 2009.** Base flow nutrient discharges from lower Delmarva Peninsula Watersheds of Virginia, USA. *Journal Environmental Quality* 38:2070-2083.

**Theede H., 1973.** Comparative studies on the influence of oxygen deficiency and hydrogen sulfide on marine bottom invertebrates. *Netherlands J Sea Res* 7:244-252.

**Thornton J. A., McComb A. J., Ryding S.-O., 1995.** The role of sediments. Pp. 205-223, In: A.J. McComb (ed.), *Eutrophic shallow estuaries and lagoons*. Boca Raton, Florida: CRC Press.

**Ui Y., 1970.** L'inquinamento da mercurio del mare di Ravenna. *Acque industriali*, 14: 9-12.

**Underwood A.J., 1997.** *Experiments in ecology*. Cambridge University Press, Cambridge.

**U.S. Environmental Protection Agency, 1986.** Quality criteria for water. EPA 550/5-86-001.

**U.S. Environmental Protection Agency, 2005.** Procedures for the Derivation of Equilibrium Partitioning Sediment Benchmarks (ESBs) for the Protection of Benthic Organism: Metal Mixtures (Cadmium, Copper, Lead, Nickel, Silver and Zinc). EPA-600-R-02-011.

**Van den Berg GA. 1998.** Geochemical behaviour of heavy metals in a sedimentation area of the rivers. Rhine and Meuse. PhD Thesis. Utrecht University, Utrecht, The Netherlands.

**Van den Hoop M.A.G.T., Den Hollander H.A., Kerdiijk H.N., 1997.** Spatial and seasonal variations of acid volatile sulphide (AVS) and simultaneously extracted metals (SEM) in dutch marine and freshwater sediments. *Chemosphere*, Vol.35, 10:2307-2316.

**Vinodhini R., Narayanan M., 2008.** Bioaccumulation of heavy metals in organs of fresh water fish *Cyprinus Carpio* (Common carp). *Environmental Science and Technology*, 5(2), 179-182.

**Vismann B., 1996.** Sulfide species and total sulfide toxicity in the shrimp *Crangon crangon*. *J Exp Mar Biol Ecol* 201:141-154.

**Vistoli A., 2003.** La Pialassa Baiona - Aspetti socio-economici: caccia, pesca, turismo, attività industriali. In. Bologna C.U.d., Ravenna C.d (Eds.). *La Pialassa della*

Baiona. Qualità dell'ambiente e attività di ricerca. Editrice La Mandragora, Imola (BO): 49-60.

**Vitousek P. M., Monney H. A., Lubchenko J., Mellilo J.M., 1997.** Human domination of Heart's ecosystem. *Science* 277: 494-499.

**Vivek P.U., Navendu Chaudhary, Arthur K., Henry H.T., John R.H., Rakesh G., 2004.** Toxicity of metals and metal mixtures: analysis of concentration and time dependence for zinc and copper. *Water Research* 38, 3651-3658.

**Wang F. and Chapman P. M., 1999.** Biological Implications of sulfide in sediment - a review focusing on sediment toxicity. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 18,2526-2532.

**Westrich J.T., 1983.** The Consequences and Controls of Bacterial Sulfate Reduction in Marine Sediments. Yale, New Haven, CT., 530 pp.

**Wieder R.K., Lang G.E., Granus V.A., 1985.** An evaluation of wet chemical methods for quantifying sulphur fractions in fresh-water wetland peat. *Limnology and Oceanography* 30, 1109-1115.

**Wolthers M., Van der Gaast S.J., Rickard D., 2003.** The structure of disordered mackinawite. *American Mineralogist* 88, 2007-2015.

**Zarull MA., Hartig JH, Maynard L .1999.** Ecological benefits of contaminated sediment remediation in the Great Lakes basin. <http://www.ijc.org/php/publications/html/ecolsed>.

**Zhabina N.U., Volkov I.I., 1978.** A method of determination of various sulphur compounds in sea sediments and rocks. In: Krumbein, W.E (Ed.) *Environmental Biogeochemistry and Geomicrobiology*. Ann Arbor Science, pp. 735-746.

**Zhuang Y., Allen HE., Fu G. 1994.** Effect of aeration of sediment on cadmium binding. *Environmental Toxicology Chemistry*; 13(5):717-24.

**ZPS. Direttiva 79/409/CEE.** Direttiva Uccelli. 2 aprile 1979.

## **ALLEGATI**

**Tabella 7** Concentrazione dei metalli pseudo totali

Fattori					Cd	Cu	Ni	Pb	Zn	
distanza dal mare	distanza dal disturbo	Area	Siti	Repliche	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	
lontano	vicino	1	A	b	1.06	84.37	44.47	36.29	465.52	
lontano	vicino	1	A	c	0.55	76.74	40.51	31.18	344.67	
lontano	vicino	1	A	d	1.45	83.65	26.50	34.66	412.67	
lontano	vicino	1	B	a	0.49	59.59	19.42	25.25	250.13	
lontano	vicino	1	B	b	0.58	55.88	39.00	25.25	279.35	
lontano	vicino	1	B	c	0.79	56.47	37.24	21.96	269.16	
lontano	vicino	1	C	a	0.52	66.35	21.62	23.50	258.14	
lontano	vicino	1	C	b	0.44	53.07	30.93	20.37	222.38	
lontano	vicino	1	C	c	0.72	76.84	40.31	26.79	289.79	
vicino	vicino	2	A	a	0.13	20.95	29.06	12.77	64.31	
vicino	vicino	2	A	b	0.10	18.21	15.01	13.05	58.63	
vicino	vicino	2	A	c	0.28	18.74	28.16	13.92	67.96	
vicino	vicino	2	B	a	0.24	34.54	16.44	15.89	116.35	
vicino	vicino	2	B	b	0.13	22.62	17.21	14.31	112.91	
vicino	vicino	2	B	c	0.18	25.21	19.19	16.25	115.80	
vicino	vicino	2	C	a	0.15	22.55	14.95	13.84	78.33	
vicino	vicino	2	C	b	0.35	18.69	26.97	13.09	81.96	
vicino	vicino	2	C	c	0.14	20.82	24.02	12.81	64.50	
vicino	lontano	3	A	a	0.15	26.56	35.73	15.40	93.70	
vicino	lontano	3	A	b	0.14	25.87	15.97	16.73	82.32	
vicino	lontano	3	A	d	0.12	24.01	34.50	16.17	78.30	
vicino	lontano	3	B	a	0.17	27.73	28.48	17.03	89.40	
vicino	lontano	3	B	b	0.19	30.63	36.15	20.56	104.04	
vicino	lontano	3	B	c	0.16	27.19	33.40	16.15	89.40	
vicino	lontano	3	C	a	0.14	28.71	34.38	17.57	101.07	
vicino	lontano	3	C	b	0.31	25.07	35.41	16.98	89.20	
vicino	lontano	3	C	c	0.15	23.08	35.51	15.73	80.49	
lontano	lontano	4	A	a	0.15	15.96	36.16	16.55	75.00	
lontano	lontano	4	A	b	0.17	17.00	23.24	10.05	79.78	
lontano	lontano	4	A	c	0.23	20.32	28.52	13.23	97.98	
lontano	lontano	4	B	a	0.31	29.21	29.12	16.37	102.29	
lontano	lontano	4	B	b	0.38	31.29	39.95	17.50	107.00	
lontano	lontano	4	B	c	0.32	30.31	36.96	16.80	100.08	
lontano	lontano	4	C	a	0.14	15.51	27.89	13.04	70.59	
lontano	lontano	4	C	b	0.32	27.05	30.95	18.99	115.23	
lontano	lontano	4	C	c	0.13	17.11	43.28	13.21	67.30	
					<b>mediana</b>	<b>0.21</b>	<b>26.80</b>	<b>30.03</b>	<b>16.46</b>	<b>99.03</b>
					<b>min</b>	0.10	15.51	14.95	10.05	58.63
					<b>max</b>	1.45	84.37	44.47	36.29	465.52
					<b>media</b>	0.33	34.94	29.91	18.31	143.77
					<b>dev.st</b>	0.29	20.80	8.48	6.20	105.99
					<b>CV %</b>	87.53	59.54	28.35	33.84	73.72
					TEL (ppm)	0.68	18.7	15.9	30.24	124
					PEL (ppm)	4.21	108	42.8	112	271
					Mare Adriatico					
					mediana	0,11	8,0	37,9	29,7	76,2
					(ppm) range	(0,04-0,97)	(2-86)	(12-205)	(10-50)	(27-162)

**Tabella 8** Rapporto tra i metalli SEM e gli AVS

<b>SEM / AVS</b>						
	<b>Cd</b>	<b>Cu</b>	<b>Ni</b>	<b>Pb</b>	<b>Zn</b>	<b>Σ SEM</b>
<b>4Aa</b>	0.000	0.01	0.02	0.01	0.08	0.08
<b>4Ab</b>	0.000	0.01	0.02	0.01	0.09	0.17
<b>4Ac</b>	0.000	0.02	0.03	0.01	0.11	0.12
<b>4Ba</b>	0.000	0.01	0.01	0.01	0.07	0.11
<b>4Bb</b>	0.000	0.02	0.02	0.01	0.10	0.13
<b>4Bc</b>	0.000	0.02	0.02	0.01	0.10	0.17
<b>4Ca</b>	0.000	0.01	0.02	0.01	0.04	0.10
<b>4Cb</b>	0.000	0.03	0.02	0.01	0.11	0.15
<b>4Cc</b>	0.000	0.02	0.02	0.01	0.06	0.15
<b>3Aa</b>	0.000	0.03	0.02	0.01	0.08	0.18
<b>3Ab</b>	0.001	0.08	0.06	0.02	0.11	0.30
<b>3Ad</b>	0.000	0.01	0.03	0.01	0.08	0.13
<b>3Ba</b>	0.000	0.02	0.02	0.01	0.12	0.17
<b>3Bb</b>	0.000	0.05	0.04	0.02	0.20	0.30
<b>3Bc</b>	0.000	0.00	0.02	0.01	0.09	0.12
<b>3Ca</b>	0.000	0.03	0.02	0.01	0.10	0.15
<b>3Cb</b>	0.001	0.08	0.07	0.03	0.11	0.28
<b>3Cc</b>	0.000	0.02	0.03	0.01	0.06	0.12
<b>2Aa</b>	0.000	0.01	0.06	0.02	0.11	0.22
<b>2Ab</b>	0.001	0.03	0.08	0.03	0.20	0.19
<b>2Ac</b>	0.001	0.06	0.09	0.03	0.23	0.24
<b>2Ba</b>	0.000	0.02	0.03	0.01	0.17	0.20
<b>2Bb</b>	0.000	0.01	0.03	0.01	0.14	0.33
<b>2Bc</b>	0.000	0.01	0.03	0.01	0.20	0.40
<b>2Ca</b>	0.000	0.02	0.03	0.01	0.07	0.12
<b>2Cb</b>	0.000	0.02	0.03	0.01	0.10	0.16
<b>2Cc</b>	0.000	0.02	0.03	0.01	0.11	0.17
<b>1Ab</b>	0.001	0.02	0.02	0.02	0.60	0.65
<b>1Ac</b>	0.001	0.04	0.01	0.01	0.36	0.42
<b>1Ad</b>	0.001	0.04	0.02	0.02	0.65	0.72
<b>1Ba</b>	0.001	0.13	0.03	0.03	0.87	1.06
<b>1Bb</b>	0.001	0.07	0.02	0.02	0.67	0.78
<b>1Bc</b>	0.001	0.07	0.03	0.02	0.66	0.77
<b>1Ca</b>	0.000	0.03	0.02	0.01	0.33	0.38
<b>1Cb</b>	0.000	0.04	0.02	0.01	0.31	0.38
<b>1Cc</b>	0.001	0.06	0.02	0.01	0.41	0.49

**Tabella 9** Matrice di correlazione tra le variabili

	Cd pseudo tot	Cu pseudo tot	Ni pseudo tot	Pb pseudo tot	Zn pseudo tot	Cd SEM	Cu SEM	Ni SEM	Pb SEM	Zn SEM	AVS	S%	SEM
LOI%	.8944	.9704	.3674	.9580	.9661	.9391	.7823	-.0185	.9108	.9391	.5042	.8166	.9431
	p=.000	p=0.00	p=.028	p=0.00	p=0.00	p=.000	p=.000	p=.915	p=.000	p=.000	p=.002	p=.000	p=.000